

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Marko Magdić

**Citolitička razgradnja zrna tijekom slađenja različitih sortnih skupina
ječma**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

diplomski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za Procesno inženjerstvo
Katedra za Bioproceno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija slada i piva

Tema rada je prihvaćena na III. Izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 3.7. 2017.

Mentor: doc. dr. sc. Kristina Mastanjević

Komentor: dr. sc. Gordana Šimić, znan. savj.

Citolitička razgradnja zrna tijekom slađenja različitih sortnih skupina ječma

Marko Magdić, 390-DI, 2015

Sažetak:

U radu je određena kakvoća različitih skupina ječma koji su mikroslađenjem prevedeni u slad. Ukupno je laboratorijski analizirano 25 uzoraka ječma, odnosno slada. U analize su uključene pivarske, stočne i višenamjenske sorte. Citolitička razgrađenost određena je na temelju rezultata friabilnosti, količine ekstrakta, razlike ekstrakta, viskoznosti i udjela β -glukana. Cilj rada bio je ustanoviti postoji li razlika između različitih sortnih skupina ječma prema ispitivanim parametrima. Prema prosjeku rezultata provedenih ispitivanja pivarske sorte su pokazale najbolju razgrađenost zrna. Sorta Pivarac u svim analizama, osim friabilnosti, udovoljava zadanim parametrima kakvoće slada. Najnižu viskoznost i najmanji udio β -glukana ostvarila je sorta Tiffany. Sadržaj β -glukana određen je u uzorcima ječma i slada. Ustanovljeno je da količina β -glukana u ječmu nije ključan faktor koji uvjetuje dobru modifikaciju zrna ječma tijekom slađenja. U većini ispitivanja najniže vrijednosti citolitičke razgradnje postigle su sorte i linije golozrnog tipa ječma (Osvit i Osk. 5.119/10-12), te sorta Rex.

Ključne riječi: sorte ječma, mikroslađenje, citolitička razgradnja

Rad sadrži: 49 stranica
21 slika
08 tablica
00 priloga
46 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | | |
|----|------------------------------------|---------------|
| 1. | prof. dr. sc. Vinko Krstanović | predsjednik |
| 2. | doc. dr. sc. Kristina Mastanjević | član-mentor |
| 3. | dr. sc. Gordana Šimić, znan. savj. | član-komentor |
| 4. | izv. prof. dr. sc. Natalija Velić | zamjena člana |

Datum obrane: 26. rujna 2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

graduate thesis

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Process Engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program of Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Technology of malting and brewing

Thesis subject: was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. III held on July 3, 2017

Mentor: Kristina Mastanjević PhD, assist. prof

Co-Mentor: Gordana Šimić, PhD, sciente advisor

Cytolytic degradation of grains during malting of different varieties of barley cultivars
Marko Magdić, 390-DI, 2015

Summary:

This paper investigated the quality of different barley groups which have been malted through the micro-malting procedure. A total of 25 samples of barley and malt, has been analysed in the laboratory. The analyses included brewing, feed and multipurpose barley cultivars. Cytolytic degradation has been determined on the basis of the results of friability, the amount of extracts, extract difference, viscosity, and β -glucan content. The aim of this paper was to determine if there is a difference between of the chosen barley cultivars according to the analysed quality parameters. Brewing barley cultivars, according to the average results of the tests, showed the best grain degradation. Apart from friability, cultivar Pivarac met the determined parameters of quality of malt in all of the analysis. Tiffany had the lowest viscosity and the lowest β -glucan content. It was established that the β -glucan content in barley is not the conditioning factor for good modification of barley grains during malting procedure. Hulless barley cultivars and lines (Osvit and Osk. 5.119/10-12) and cultivar Rex, showed the poorest results.

Key words: barley cultivars, micro-malting, cytolitic degradation

Thesis contains: 49 pages
21 figures
08 tables
00 supplements
46 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | Vinko Krstanović PhD, assoc. prof. | chair person |
| 2. | Kristina Mastanjević PhD, assist. prof | supervisor |
| 3. | Gordana Šimić, PhD, sciente advisor | member |
| 4. | Natalija Velić, PhD, assoc. prof. | stand-in |

Defense date: September 26, 2017

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Kristini Mastanjević na uloženoj trudu i izuzetnoj pomoći prilikom izrade diplomskog rada. Zahvaljujem se prof. dr. sc. Vinku Krstanoviću na korisnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se znanstvenicima Poljoprivrednog instituta, posebno komentorici dr. sc. Gordani Šimić, na stručnoj i praktičnoj pomoći tijekom odrađivanja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Naravno, još se želim zahvaliti roditeljima što su mi omogućili školovanje, te kolegama na pomoći tijekom studiranja.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. JEČAM	4
2.1.1. Botanička svojstva i karakteristike pivarskog ječma	4
2.1.2. Građa i kemijski sastav zrna.....	7
2.2. SLAD	14
2.2.1. Karakteristike i tipovi slada.....	14
2.2.2. Proces proizvodnje slada	15
2.2.3. Enzimska razgradnja endosperma zrna ječma	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO	20
3.1. ZADATAK.....	21
3.2. MATERIJAL I METODE	21
3.2.1. Mikroslađenje.....	22
3.2.2. Određivanje fizikalnih svojstava slada	24
3.2.3. Fizikalno-kemijske analize slada	25
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. REZULTATI ANALIZA	30
4.2. OBRADA REZULTATA	33
5. ZAKLJUČCI	43
6. LITERATURA	45

Popis oznaka, kratica i simbola

P/S	Pivarsko-stočna sorta
S	Stočna sorta
P	Pivarska sorta
s.t.	Suha tvar
FAO	Organizacija za hranu i poljoprivredu
EBC	Europska pivarska konvencija
SAD	Sjedinjene Američke Države

1. UVOD

Ječam se danas koristi kao sirovina u različitim prehrambenim industrijama. Najčešća primjena je u proizvodnji piva, viskija, žitnih rakija, stočne hrane te u prehrani ljudi. Pozitivni učinci korištenja ječma u prehrani se uglavnom pripisuju β -glukanima. β -glukani su dijetalna vlakna odnosno polisaharidi koji se sastoje od jedinica glukoze povezanih s β -(1,3) i (1,4)-D glikozidnim vezama. Ječam sadrži čak 5-11% β -glukana, koji su sadržani u endospermu i aleuronskom sloju zrna čiji je udjel u zrnu pretežito genotipski determiniran.

Ječam je osnovna sirovina za proizvodnju slada tj. piva, a povišen udjel β -glukana rezultira i povišenim udjelom njihovih topljivih frakcija, što ima negativan učinak na kvalitetu slada (otežana citoliza, smanjena friabilnost, udio ekstrakta i fermentabilnost zrna). Tijekom proizvodnje piva topljivi β -glukani uzrokuju značajne procesne probleme (otežana filtrabilnost i smanjena koloidna stabilnost piva, povećanje proizvodnih troškova te ometanje normalnog vrenja sladovine). Iz navedenoga se vidi važnost udjela β -glukana u ječmu i sladu za niz tehnoloških aspekata u proizvodnji piva budući se oni ne mogu eliminirati tijekom procesa slađenja zrna. Obzirom da su kod nas u uzgoju ječma veoma malo zastupljene čiste pivarske sorte, pa se za slađenje koriste tzv. pivarsko-stočne sorte koje obično imaju više β -glukana od čistih pivarskih, što pridonosi problematici vezanoj uz β -glukane. Pri tome je od izuzetnog značaja za proizvodnju kvalitetnog slada da se za domaći sortiment ječma ustanove odnosi između polazne koncentracije β -glukana u ječmu i β -glukana u sladu i međuovisnosti istih sa pokazateljima uspješnosti citolitičke razgradnje zrna tijekom slađenja (razlika fino-grube meljave, friabilnost zrna i viskoznost kongresne sladovine).

Pregledom domaće znanstveno-stručne literature na ovom području nisu pronađeni odgovarajući podatci koji bi bili od koristi, a raspoloživa strana literatura se, uglavnom, odnosi na sjevernoeuropski sortiment koji ima genotipski različita svojstva od domaćega, a i tijekom vegetacijskog perioda prolazi značajno drugačiji put (prvenstveno zbog izbjegavanja faze prisilnog sazrijevanja koja je u našim uvjetima vrlo česta). Zbog toga je provedeno ovo istraživanje s ciljem ustanovljavanja korelacijske veze između polaznih β -glukana u ječmu i ukupnih β -glukana u sladu za različite namjenske grupe sorti domaćega ječma (pivarski, pivarsko-stočni, stočni) i za različite sortne grupe (zimski-dvoredi, jari-dvoredi, zimski-šestoredni i golozrni) ječma. Rezultati ovog istraživanja trebali bi biti smjernice za podešavanje procesnih parametara prilikom proizvodnje slada i ukomljavanja kod proizvodnje piva.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JEČAM

Ječam je biljka iz porodice trava, ali i jedna od najstarijih ratarskih kultura uopće. Plodni polumjesec Bliskog istoka kojeg čine Turska, Iran, Irak i Libanon zabilježen je kao izvorno područje uzgoja i najvjerojatnije mjesto porijekla ječma (Harlan, 1979.). Prema iskopinama, ječam je pripitomljen u dolini rijeke Nil prije najmanje 17 000 godina (Wendorf i sur., 1979.). U Egiptu se uzgajao prije otprilike 7000 godina, u Asiriji, Babilonu, Kini i Indiji prije 5000 godina. Mjesta porijekla dvorednog divljeg ječma su Sirija i Palestina, dok višeredni oblici ječma potječu iz Istočne Azije. Etiopija i Eritreja označavaju porijeklo različitih sorti jarog ječma (Gagro, 1997.; Divjak, 2005.).

U početku je služio samo za prehranu ljudi, a s vremenom korištenje ječma se proširilo na razne industrije (prvenstveno industrija piva) te, naravno, za ishranu stoke. Ova strna žitarica uspijeva i u hladnijim krajevima, što je vjerojatno jedan od razloga zbog kojeg zauzima visoko mjesto u proizvodnji. Po ukupno zasijanim površinama u svijetu zauzima četvrto mjesto odmah iza riže, pšenice i kukuruza (Bengtsson, 1992).

Prema podacima FAO-a, 2014. godine je u svijetu na nešto manje od 50 milijuna ha zemlje proizvedeno oko 144 milijuna tona ječma. Danas, glavni proizvođači ječma su Rusija, Francuska, Njemačka, Australija, Ukrajina, Kanada, Španjolska, UK, Turska, USA. Samo se u Rusiji proizvode otprilike 14% od ukupne svjetske proizvodnje, dok su najveći prinosi po hektaru zabilježeni u Francuskoj i Njemačkoj. Ječam se uzgaja u različitim regijama svijeta, primjerice na 330 metara ispod razine mora (u blizini Mrtvog mora, Bliski istok), a čak i na visini od 4200 metara na Andama u Boliviji (Akar i sur., 2004.).

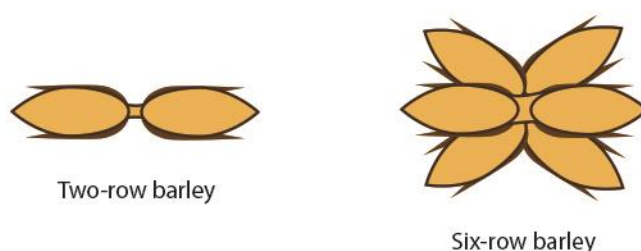
2.1.1. Botanička svojstva i karakteristike pivarskog ječma

Ječam pripada porodici *Poaceae*, odjelu *Triticeae*, pododjelu *Hordeinae*, te rodu *Hordeum* koji obuhvaća 25 vrsta, a svi kultivirani oblici ječma svrstani su u vrstu *Hordeum vulgare*. Izvornim oblikom u razvoju kulturnog ječma smatra se *Hordeum spontaneum* (dvoredi divlji ječam) iz kojeg se potom razvio dvoredni ječam - *Hordeum vulgare* convar. *distichon*, te na kraju višeredni ječam, *Hordeum vulgare* convar. *hexastichon* (Šimić, 2009.).

Kultivirane vrste ječma (*H.vulgare*) se prema razvijenosti, rasporedu i fertilnosti klasića dijele u pet konvarijeteta:

- *Hordeum vulgare, convar. hexastichon* (višeredni ječam),
- *Hordeum vulgare, convar. intermedium* (prijelazni ječam),
- *Hordeum vulgare, convar. distichon* (dvoredni ječam),
- *Hordeum vulgare, convar. dificiens* (nepotpuni ječam),
- *Hordeum vulgare, convar. labile-irregulare* (labilni ječam) (Mansfeld, 1950.).

Prema poprečnom prerezu klasa je moguće odrediti o kojem tipu ječma se radi. Ukoliko na istim visinama klasa dolazi 6 zrna, ona su poredana u obliku zvijezde tako da se vrhovi zrna nalaze u vrhovima šesterokuta. Zatim, postoji ječam četveroredac sa 4 zrna na istoj visini klasa poredana u smjeru dijagonala četverokuta. Ipak za pivarstvo je od najvećeg značaja dvoredac koji ima samo dva reda zrna u klasu, što mu ostavlja dovoljno prostora za razvoj, te zbog toga ima pravilna, izdužena i jedra zrna, što je bitno svojstvo pivarskog ječma (Mohaček, 1948.).



(<http://www.mooseheadbeeracademy.com/barleymalt-part-one-two-bbh/>)

Slika 1 Prikaz položaja zrna dvorednih i višerednih tipova ječma

Zrno dvorednih sorti je veliko i trbušasto te obično s manjom pljevicom. Zahvaljujući tome, u dvorednom ječmu je manji udio taninskih i gorkih sastojaka, te postiže relativno velik sadržaj ekstrakta. Zrna višerednog ječma nisu ujednačena zbog nedostatka prostora, a zrna iz bočnih redova su manja i pri dnu udubljena (Kunze, 1994.). Kako je u Hrvatskoj malo sorti koje ispunjavaju zahtjeve u pogledu sladarske kakvoće, određene stočne sorte označene su kao

višenamjenske (Krstanović i sur., 2016.). Prema tome, s obzirom na namjenu, razlikujemo stočni (S), pivarski (P) i pivarsko-stočni ječam (P/S).

Vanjske karakteristike dobrog pivarskog ječma su:

- ujednačena svijetlo-žuta boja zrna,
- ujednačenost zrna koja je pokazatelj čistoće sorte,
- zdrava i cijela zrna, bez prisutnosti stranih mirisa,
- odsustvo svih štetočina (Štefanić i Marić, 1990.).

Razdoblje sijanja traje od sredine rujna do listopada za ozimi ječam, dok je to kod jarog ječma uglavnom u periodu od ožujka do travnja. Danas postoje sorte koje pripadaju tzv. fakultativnim sortama koje se mogu sijati u oba vremenska perioda. Od svih oblika ječma posebno su pogodne sorte jarog dvorednog ječma, koje najbolje udovoljavaju zahtjevima koje postavlja industrija prerade ječma (Kunze, 1994.). Republika Hrvatska smještena je u južnijem dijelu Europe, gdje ozimi ječam u odnosu na jari ječam, pogotovo u nizinskim područjima, ostvaruje više, sigurnije i stabilnije urode zrna (Kovačević i sur., 1994., Lalić i Kovačević, 1997.) zbog boljeg iskorištavanja jesenske i zimske vlage, bolje otpornosti na sušu, odnosno dozrijevanjem prije ljetnih suša. Jari ječam u odnosu na ozimi ječam ima odliku bolje i ujednačenije kakvoće slada (Lalić i Kovačević, 1997.). Za pivarski ječam važna je gnojidba dušičnim gnojivima jer je ona direktno povezana sa sadržajem proteina. Kvalitetan pivarski ječam sadrži od 9,5% - 11,5% proteina, a ukoliko je gnojidba jača i količina proteina u zrnu će biti veća (Mohaček, 1949.). Vještina je uzgoja pivskoga ječma u tome da se biljkama u proizvodnji osigura optimalna količina dušika koja neće ograničiti razvoj biljaka, ali koja neće ni dovesti do povećanja apsorpcije dušika u zrnu ječma. Količina apsorbiranog dušika po zrnu ovisi uglavnom o količini dostupnog dušika, sabijanju tla i o riziku nedostatka vode tijekom kasnog proljeća (Šimić, 2009.).

Glavni ciljevi u oplemenjivanju ječma su povećanje prinosa te njegova stabilnost (Pržulj i sur., 2000.), nizak sadržaj proteina (ispod 11,5%) i visok sadržaj kod stočnog ječma (iznad 13%), visok sadržaj finog ekstrakta (iznad 80%), povećanje ukupne nadzemne biomase uz zadržavanje postignutog žetvenog indeksa, povećanje intenziteta nalijevanja uz postojeću dužinu trajanja nalijevanja zrna (Pržulj i sur., 2000.), a općenito otpornost prema dominantnim bolestima i stresnim uvjetima, posebno suši (Pržulj i Momčilović, 2006.).

Kakvoća ječma za proizvodnju slada može se ustanoviti raznim fizikalno-kemijskim metodama analize. Osim na temelju vanjskih karakteristika, određivanjem mase tisuću zrna, hektolitarske mase, brašnavosti, klijavosti, hidrosenzibilnosti, moći vezivanja vode, vlage i već spomenutog sadržaja proteina moguće je odrediti pogodnost ječma za proizvodnju slada. Kad se govori o hektolitarskoj masi, smatra se da je ječam veće mase bogatiji škrobom. Hektolitarska masa ovisi o broju zrna koji zauzimaju određeni volumen, no kako taj broj zavisi od mnogih faktora ne smatra se previše pouzdanim pokazateljem kakvoće (Štefanić i Marić, 1990.). U dobrom pivarskom ječmu sadržaj brašnavih zrna ne smije biti ispod 80%, dok preostala zrna mogu imati prolaznu i trajnu staklavost. Ukoliko je trajna staklavost velika dobiveni slad mogao bi biti slabo razgrađen (Kunze, 1994.).

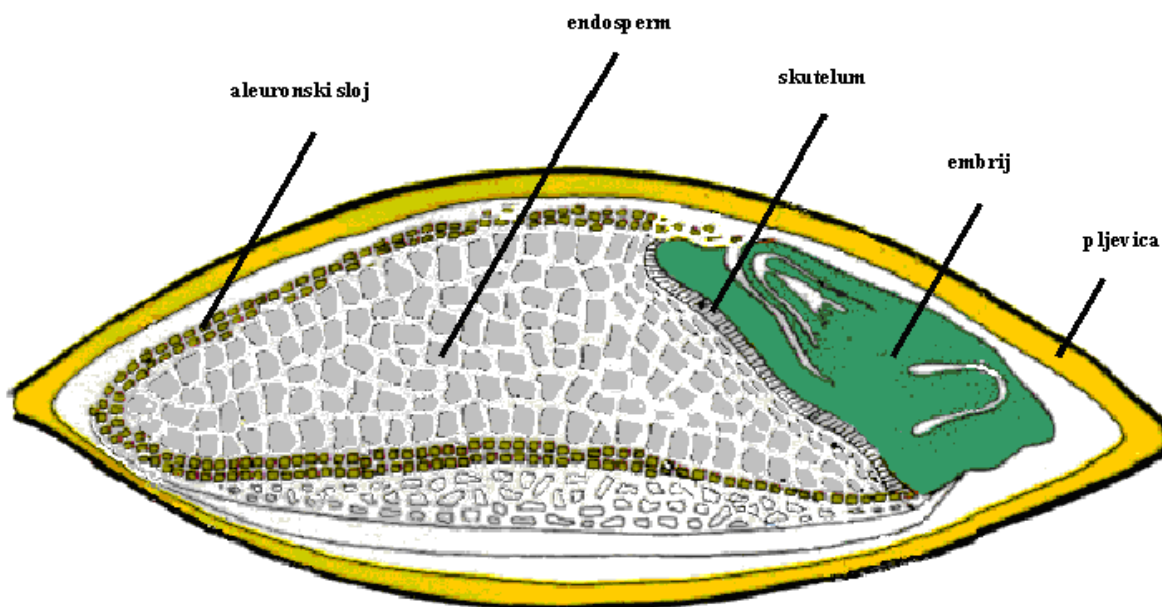
Klijavost označava fiziološku karakteristiku zrna, a definira se kao postotni udio živih zrna u ječmu. Predstavlja najznačajniju karakteristiku ječma koji služi za proizvodnju slada jer smanjenje klijavosti za posljedicu ima smanjenje sadržaja ekstrakta, povećanje razlike ekstrakta te povećanje viskoznosti (Štefanić i Marić, 1990.). Pivarski ječam zahtjeva klijavost od najmanje 96%. Niska energija klijanja (primarna pospanost) karakteristika je ječma od velikog značaja za industriju slada. Neposredno nakon žetve ječam ima malu energiju klijanja koja se tijekom skladištenja povećava (Štefanić i Marić, 1990.).

2.1.2. Građa i kemijski sastav zrna

Osim spomenutih razlika između određenih vrsta ječma, postoje i golozrne sorte ječma. Međutim one se ne koriste za proizvodnju piva (Europa), a njihovo korištenje zahtijevalo bi različite procesne parametre tijekom procesa slađenja. U industriji piva koriste se „pljevičarske“ sorte, tj. one kod kojih su trbušna i leđna pljevica sa unutrašnje strane srasle sa perikarpom i sjemenjačom (Kunze, 1994.).

Osnovna građa zrna ječma sadrži embrionalni dio, endosperm i omotač (slika 2). U embrionalnom dijelu se nalazi embrio sa začecima lisne klice i korjenčića. Embrionalni dio je odvojen od endosperma tankim slojem tkiva štitića i epitelijalnim slojem, koji se sastoji od duguljastih stanica palisadnog oblika (Kunze, 1994.). Embrio je dio zrna iz kojega procesom klijanja nastaje nova biljka. Bogat je bjelančevinama, topljivim šećerima, mineralnim tvarima te lipidima koji su neophodni za sintezu te početak rasta tijekom klijanja (Gaćeša, 1979.;

Marić, 2000.). U sastav štitića ulazi usisni epitel, sloj šupljih duguljastih stanica preko kojega se prenose otopljeni sastojci endosperma tijekom prirodnog klijanja u zemlji.



Slika 2 Uzdužni presjek zrna ječma (Hough i sur.,1976.)

Endosperm zauzima najveći udio u zrnju, bogat je škrobom koji se nalazi u obliku škrobnih zrnaca. Tijekom klijanja se ove ćelije endosperma lagano prazne uz oslobađanje energije neophodne za razvoj embrija. Endosperm je okružen slojem proteina (aleuronski sloj), a on čini glavno mjesto za nastajanje enzima (Kunze, 1994.).

Omotač zrna se sastoji od nekoliko slojeva, a najznačajniji su sjemenjača (testa), perikarp te epidermis. Testa dolazi nakon aleuronskog sloja, polupropusna je, te obavija cijelo zrno. Zatim dolazi perikarp, nakon njega epidermis koji se zaštićen pljevicom. Glavni sastojak pljevice su celuloza i lignin, dok ostatak čine pentozani, manani, uronične kiseline i hemiceluloze (Marić, 2000.; Gaćeša, 1979.). Znatno je i udio silicija zbog kojeg pljevica ima abrazivna svojstva (Divjak, 2005.).

Kemijski sastav ječma dobar je pokazatelj njegove pogodnosti za proizvodnju slada, odnosno piva u cjelini. Osim količine škroba, te već spomenute maksimalne količine proteina svakako je bitan čimbenik vlaga. Vлага može varirati od 12% pa sve do 20% (vlažna žetva), iako prosječno sadržaj vlage iznosi oko 14%. Previše vlažan ječam gubi na klijavosti, a osim toga potrebno je sušiti ga kako bi se mogao sigurno skladištiti (Kunze, 1994.).

Tablica 1 Kemijski sastav suhe tvari zrna ječma (Lásztity, 1999.)

Prosječni sastav suhe tvari zrna ječma	(% s.t.)
Ukupni ugljikohidrati	78-83
Škrob	51-67
Saharoza	1-2
Monosaharidi	1-2
Arabinoksilani	4-8
B-glukani	2,5-6,0
Celuloza	2-5
Ukupne bjelančevine	8-15
Albumini i globulini	1-4
Hordeini	3-6
Glutelini	3-6
Aminokiseline i peptidi	0,5
Ukupni lipidi	2-3
Trigliceridi	0,5-1,3
Fosfo-i glikolipidi	0,5-1,3
Voskovi i steroli	0,1-0,2
Mineralne tvari	1,9-2,5

Prema tablici 1, suha tvar zrna sadrži do 67% **škroba** koji nastaje tijekom sazrijevanja putem asimilacije uz nastanak glukoze te potom njene kondenzacije (Kunze, 1994.). Predstavlja rezervnu energiju koja omogućuje preživljavanje embrija. Amiloza i amilopektin su komponente škroba koja se razlikuju u strukturi što se odražava na mogućnost njihove razgradnje u procesu slađenja i komljenja (Šimić, 2009.). Amiloza je ravna molekula od jedinica glukoze povezana α -(1,4) glikozidnim vezama. Amilopektin je veći polimer s α -(1,4) i α -(1,6) glikozidnim vezama koje čine razgranatu strukturu ove molekule. Temperatura želatinizacije škroba je bitan faktor o kojem ovisi kvaliteta slada odnosno količina ekstrakta. Postoje razne vrste škroba, a one se različito ponašaju u sličnim uvjetima. Primjerice, škrob sa visokim udjelom amiloze i voštani škrob želatiniziraju na višim temperaturama od standardnog škroba. Prvi spomenuti pokazuje veću otpornost na enzimsku razgradnju tijekom ukomljavanja. Kod voštanog škroba razina amiloze je niža nego uobičajeno, te općenito ima niži sadržaj ekstrakta (što je povezano sa nižim stupnjem modifikacije), te veću količinu β -glukana (Ullrich i sur., 1986.; Swanston, 1996.; Fox, 2010.).

Šećera u ječmu ima do 2%, lako se transportiraju što im omogućava sudjelovanje u metabolizmu embrija. U zrnju u stanju mirovanja postoji samo mala količina šećera i to uglavnom kao saharoza (Kunze, 1994.).

Zrno ječma sadrži **celulozu** (do 5%) koja se sastoji, baš kao i amiloza, od dugačkih nerazgranatih lanaca ostataka glukoze povezanih u 1,4 položaju. Međutim, za razliku od amiloze, kod celuloze se ostaci glukoze nalaze u β položaju. Enzimi koji nastaju tijekom klijanja je ne mogu razgraditi pa ne utječe na kakvoću piva (Kunze, 1994.).

Hemiceluloze su osnovni sastojci staničnih stijenki endosperma, a čine ih β -glukani i arabinoksilani. **β -glukani** će biti detaljnije opisani u sljedećem potpoglavlju ovoga rada. Od ukupnog sadržaja hemiceluloza 80 do 90% je β -glukana, dok arabinoksilani čine od 10 do 20%. Molekule arabinoksilana se sastoje od pentoznih molekula, ksiloze i arabinoze. U osnovi, u molekuli arabinoksilana su zastupljeni dugački lanci ostataka (1,4)-D-ksiloze, a na pojedinim mjestima su ugrađeni ostaci arabinoze. Tijekom slađenja i ukomljavanja ove se molekule jednim dijelom razgrađuju, a njihov utjecaj na kvalitetu piva je beznačajan i neusporediv u odnosu na utjecaj gumastih tvari (Kunze, 1994.; Šimić 2009.).

Količina **proteina** može biti između 8 i 11%, a ponekad čak do 16%. Proteinske tvari imaju veliki utjecaj, bez obzira što samo trećina proteinskih tvari prelazi u pivo. Iako određene proteinske tvari osiguravaju stabilnost pjene, poznat je i njihov utjecaj na zamućenje piva. Proteini su izvor aminokiselina koje su važan izvor dušika potrebnog za rast i metabolizam kvasca tijekom vrenja piva (Mohaček, 1948.; Kunze, 1994.).

Od ukupnog sadržaja proteina, oko 50% je prolamin (hordein), a ostale tri frakcije uključuju gluteline, globuline, albumine. Razni faktori utječu na krajnji sadržaj proteina, uključujući genotip, uvjete uzgoja, te upotrebu gnojiva (Fox, 2010.).

Masti se uglavnom nalaze u aleuronskom sloju i klici, te su gotovo sve masti trigliceridi. Najvećim dijelom su zastupljene dugo lančane masne kiseline i to stearinska, oleinska, linolna i linoleinska kiselina (Kunze, 1994.). U obliku slobodnih masnih kiselina javlja se samo jedan mali dio, ispod 0,1% (Štefanić i Marić, 1990.). Sadržaj masti u ječmu je bez prevelikog značenja, jer masti tijekom proizvodnje piva neiskorištene prelaze u pivski trop.

Minerala u zrnu ima do 3%, dolaze u obliku neorganskih tvari. Najzastupljeniji su fosfati (35%), silikati (25%) i soli kalija (20%). Općenito, različite soli predstavljaju neophodne tvari za razne procese (npr. za vrenje) (Kunze, 1994.).

Polifenoli se nalaze u pljevici, a dio ih se nalazi u aleuronskom sloju. Primjer polifenola su tanini koji pivu daju opor okus ako se u pivu nalaze u prekomjernoj količini. Ječam sadrži 0,1-0,3% polifenola na suhu tvar, a sadržaj ovisi o sorti i uvjetima uzgoja. Tvari iz grupe tanina vezivanjem za molekule proteina tvore netopljive komplekse. U tome procesu ključni su i spojevi koji oksidativnom polimerizacijom daju tanine. Primjeri prekursora tanina su antocijanogeni i katehini, jednostavno nazvani taninogeni (Štefanić i Marić, 1990.).

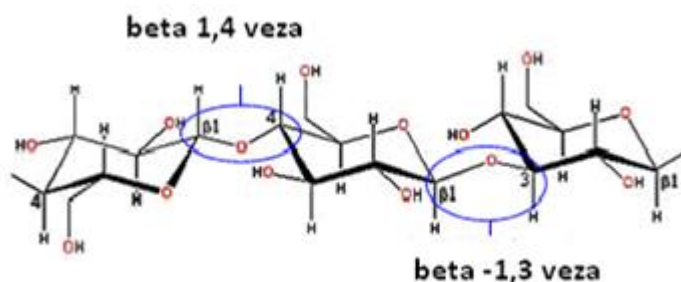
Kao i većina ostalih žitarica, ječam sadrži relativno velike količine vitamina B skupine i manje količine ostalih vitamina (vitamin E i C). Od vitamina B skupine najzastupljeniji su vitamini B1 (tiamin) u vanjskim dijelovima zrna i B2 (riboflavin). Askorbinska kiselina dolazi u malim količinama, dok su tokoferoli prisutni u klici (Kunze, 1994.).

U zrnu ječma u stadiju mirovanja nalazi se mali broj **enzima** koji, u pravilu, dolaze u vezanom i netopljivom obliku. Enzimi su potrebni za prevođenje složenijih tvari endosperma u jednostavniji i topiviji oblik, koje onda embrij može koristiti za dobivanje energije odnosno izgradnju novih sastojaka stanica. Enzimi se sintetiziraju ili aktiviraju u procesu klijanja koje se još naziva slađenje (Kunze, 1994.; Šimić, 2009.).

2.1.2.1 Svojstva i struktura β -glukana

β -glukani se sastoje od linearnih lanaca glukopiranoznih jedinica povezanih β -(1,3) i β -(1,4) vezama. Spomenute veze nisu ravnomjerno raspoređene u molekulu. Zbog toga u određenim uvjetima nastaju duži lanci sa samo β -(1,4) vezama ili se nalazi po nekoliko β -(1,3) veza jedna iza druge. Različit raspored veza utječe na strukturu molekula koja potom uvjetuje mogućnost njihove enzimске razgradnje (Štefanić i Marić, 1990.; Kunze, 1994.).

Dodatno, razgradnja β -glukana je otežana jer lako prelazi u gel stanje što uzrokuje porast viskoznosti piva i uzrokuje problem prilikom filtracije. Upravo zbog navedenoga svojstva ove molekule se svrstavaju u gumaste tvari (Šimić, 2009.).



Slika 3 Struktura (1,3),(1,4)- β -D-glukana ječma (VitaminPROS, 2017.)

Osim žitarica važni izvori β -glukana su kvasci, bakterije, alge i gljive. Postoji mnogo različitih β -glukana, a njihova struktura ovisi o izvoru iz kojega su izolirani. Iako su β -glukani i škrob građeni od molekula glukoze kao građevnih jedinica, ova dva polisaharida međusobno se značajno razlikuju jer su njihove građevne jedinice povezane na različite načine. Za razliku od škroba β -glukani se ponašaju kao prehrambena vlakna i nisu probavljivi u ljudskom probavnom sustavu (Petravić Tominac i sur., 2010.).

Fizikalna svojstva β -glukana, kao što su topljivost i reološka svojstva, rezultat su njihovih molekulskih osobina, ali i primijenjene koncentracije i temperature (Lazaridou i Biliaderis, 2007.). Reološka svojstva utječu na tehnološka i prehrambena svojstva konačnog proizvoda (Lazaridou i Biliaderis, 2007.; Petravić-Tominac i sur., 2010.). Razne industrije koriste ga u proizvodnji funkcionalnih proizvoda. Važno svojstvo β -glukana, koje se iskorištava u pekarstvu, je njegova moć upijanja i vezanja vode. Dodatkom β -glukana u zamjes povećava se viskoznost tijesta, što rezultira boljom obradivošću tijesta i većim volumenom kruha (Petravić-Tominac i sur., 2010.).

Osim u prehrambenoj industriji, β -glukani su vrlo poznati i korišteni u farmaceutskoj industriji. Baik i Ullrich (2008.) istražili su ispitivanja provedena na životinjama i ljudima u svrhu dobivanja informacija o pozitivnim učincima β -glukana. β -glukan iz ječma pomaže u snižavanju kolesterola i glukoze u krvi, omogućava gubitak kilograma stvaranjem osjećaja sitosti. Drugim riječima, preventivno djeluje na bolesti srca i dijabetes tipa dva.

2.1.2.2 β -glukani u industriji piva

Stanične stijenke endosperma žitarica sadrže β -glukane i pentozane. Količina β -glukana ovisi o nekoliko faktora, poput genetskog podrijetla i okolišnih uvjeta. Kod ječma se njihov sadržaj kreće od 2,5 do 6%, a ponekad i do 11%. Tijekom pretvorbe ječma u slad dolazi do određenih promjena. Osim razgradnje škroba, proteina, dolazi i do razaranja β -glukana djelovanjem

enzima. Međutim, kako je već navedeno, dio β -glukana u zrnu ječma koji se nije razgradio tijekom slađenja izaziva poteškoće prilikom cijedenja sladovine i filtracije piva (Marić, 2009.; Šimić, 2009.). Ipak, sadržaj β -glukana nije najvažniji čimbenik o kojem ovisi filtrabilnost piva. Značajnije je u kolikoj mjeri je nastao β -glukanski gel koji ovisi o prisutnosti makromolekularnog β -glukana (Kunze, 1994.).

U industriji slada visok sadržaj β -glukana može dovesti do nedovoljne razgrađenosti staničnih zidova, što za posljedicu ima slabiju difuziju enzima koji nastaju klijanjem. U konačnici to uzrokuje nižu razinu ekstrakta kod slada. Ostaci nerazgrađenih glukana povećavaju viskoznost sladovine, što dovodi do poteškoća s filtracijom, te mogu biti odgovorni za proces starenja piva uzrokujući hladno zamućenje (Wang i sur., 2004.).

Sadržaj ovih spojeva često je povezan sa genetskom modifikacijom škroba i tipom zrna ječma. Prema nekim autorima koje spominju Zhang i sur. (2002.), visoka razina β -glukana pronađena je kod golozrnih sorti ječma i sorti ječma s voštanim škrobom (100% amilopektin). Također, razlike u njihovoj prisutnosti u zrnu pripisane su i primijenjenim analitičkim metodama. Ranije korištena metoda uključivala je mjerenje viskoznosti te je davala više vrijednosti. Enzimska metoda, koju su razvili McCleary i Glennie-Homes (1985.), jednostavna je procedura sa dobrom ponovljivosti uz upotrebu komercijalnog kita.

S druge strane, Zhang i sur. (2001.) naglašavaju da sadržaj β -glukana u sladovini ne zavisi samo od njegovog sadržaja u zrnu, već uvelike ovisi o aktivnosti β -glukanaze tijekom slađenja. Stoga bi trebalo obratiti pažnju na potencijal nastanka ovog enzima tijekom klijanja. Naime, za razgradnju β -glukana na raspolaganju su dva enzima iz slada s različitim temperaturnim optimumima i proizvodima hidrolize (Marić, 2009.):

β -glukan + β -glukanaza (45 -50°C) \rightarrow β -glukanski dekstrin

β -glukan + β -glukan-solubilaza (60-65°C) \rightarrow otopljeni β – glukan

Endo- β -glukanaza je prisutna u ječmu, dok se egzo- β -glukanaza sintetizira tijekom slađenja. β -glukan-solubilaza oslobađa β -glukan iz kompleksa sa proteinima te se njena aktivnost tijekom procesa slađenja povećava i do 170%. Citolitičkom razgradnjom se otvaraju putevi za ulazak drugih enzima u unutrašnjost endosperma, čime se olakšava njegova daljnja razgradnja koja će biti detaljnije opisana u sljedećem poglavlju (Kunze, 1994.).

2.2. SLAD

2.2.1. Karakteristike i tipovi slada

Za proizvodnju slada se koristi ječam koji mora zadovoljiti određene zahtjeve u pogledu kakvoće, kako bi se dobio kvalitetan krajnji proizvod. U tradicionalnoj proizvodnji piva ječam se prevodi u slad, a potom se koristi za proizvodnju piva. Moguće je dio slada zamijeniti ječmom, gdje pljevica, naknadno, osigurava filtracijski sloj neophodan za cijeđenje sladovine (Šimić, 2009.).

Osnovne karakteristike dobrom pivarskog slada čine:

- ujednačena svijetlo-žuta boja,
- čist, svjež miris karakterističan za tip slada,
- cijela zrna, bez prisutnog zrna stranog podrijetla, prašine, klice (Štefanić i Marić, 1990.).

Prije samoga slađenja potrebno je provesti čišćenje, sortiranje, skladištenje. Navedenim postupcima općenito se sprječava narušavanje kakvoće slada, a skladištenje zrna ječma je ključno do nestanka dormantnosti. Razdvajanje zrna različitih dimenzija je ključno jer različite veličine zrna različito primaju vlagu (Štefanić i Marić, 1990.; Šimić, 2009.). U tablici 2 dani su neki od fizikalnih i kemijskih pokazatelja kakvoće svijetlog slada. Fizikalno-kemijske analize (osim β -glukana) provode se nakon mljevenja slada, te ukomljavanja po kongresnoj metodi. Za određivanje topljivih β -glukana, sladovina se analizira nakon ukomljavanja kongresnom metodom.

Tablica 2 Pokazatelji kakvoće svijetlog tipa slada (Marić, 2000.)

Fizikalna svojstva	Masa 1000 zrna	25-35 g s.t. slada
	Friabilnost	>80%
Fizikalno-kemijska svojstva	Viskoznost	<1,55 mPas
	Ekstrakt	>80%
	Razlika ekstrakta	<1,8%
	β -glukani	2,58-4,87 g/100 g s.t.

Uz svijetli tip slada (plzenski tip), razlikujemo nekoliko specijalnih vrsta slada. Specijalne vrste slada su:

- dijestatski slad (uz primjenu neslađenih sirovina),
- melanoidinski slad (posebne vrste piva),
- karamelni slad (aromatizacija),
- slad za bojanje,
- slad drugih žitarica (Štefanić i Marić, 1990.).

2.2.2. Proces proizvodnje slada

Uskladišteni ječam, koji je već prošao faze čišćenja i sortiranja, spreman je za ulazak u proces proizvodnje slada. Osnovne faze od kojih se sastoji postupak slađenja su močenje, klijanje i na kraju sušenje. Slađenjem ćemo dobiti sirovinu koja će uz proces ukomljavanja biti iskoristiva za mikroorganizme.

U ječmu prije slađenja aktivnost enzima je prilično mala. Kako bi se to promijenilo, potrebno je suho zrno prevesti iz stanja anabioze, te usporenih životnih procesa u fazu aktivnog života (Štefanić i Marić, 1990.). Prilikom močenja dolazi do povećanja vlažnosti u unutrašnjosti zrna. Na početku procesa vlaga prodire u dijelu gdje je embrij, a potom i u bočne omotače. Ključni parametri o kojima ovisi primanje vode su temperatura, dimenzija zrna, sorta, godina žetve, ali i trajanje močenja (Kunze, 1994.). Primanjem vlage zrno počinje intenzivno disati zbog čega je potrebno osigurati određenu količinu kisika. Ukoliko aeracija izostane dolazi do intramolekulskog disanja, koje u krajnjoj liniji uzrokuje odumiranje zrna (Kunze, 1994.).

Močenjem zrno bubri, a volumen se povećava za jednu trećinu. Tijekom ove faze vlaga u zrnu se povećava od 42% do 45%. Proces močenja smatra se završenim kada primarni korjenčić probije pljevicu zrna i pojavljuje se kao zamjetna bijela točka (Marić, 2000.).

Tablica 3 Procesni parametri u različitim fazama slađenja (Schuster i sur. 1988.)

Ječam	Skladištenje	Vlaga	12-14%
		Temperatura	12°C
Modifikacija endosperma	Močenje	Udjel vode	45%
	Klijanje	Vrijeme	5 dana
		Temperatura	12-16°C
	Sušenje	Temperatura	Oko 85°C
		Vlažnost	4%
Slad	Dorada slada i skladištenje		

Nakon završetka faze močenja zrno ulazi u proces klijanja. Svrha klijanja je prevođenje namočenog zrna ječma u zeleni slad. Zeleni slad karakterizira razgrađenost zrna uz visoki sadržaj aktivnih enzima (Štefanić i Marić, 1994.).

Osim spomenutog, tijekom klijanja dolazi do rasta i razvoja korjenčića i klice. Korjenčići predstavljaju gubitak (uklanjaju se), pa je potrebno ograničiti rast istih promjenom procesnih parametara. Zbog toga se klijanje vodi na što nižoj temperaturi te što kraće vrijeme (Kunze, 1994.).

Sušenje i dorada zelenog slada se provode radi očuvanja svojstava slada, primjerice karakterističnog okusa, arome i boje, uz očuvanje enzimске aktivnosti (Marić, 2000.). Sa završetkom klijanja prestaje razgradnja endosperma zrna, pa kako u sladu nema zbivanja, smatra se stabilnim proizvodom (Kunze, 1994.).

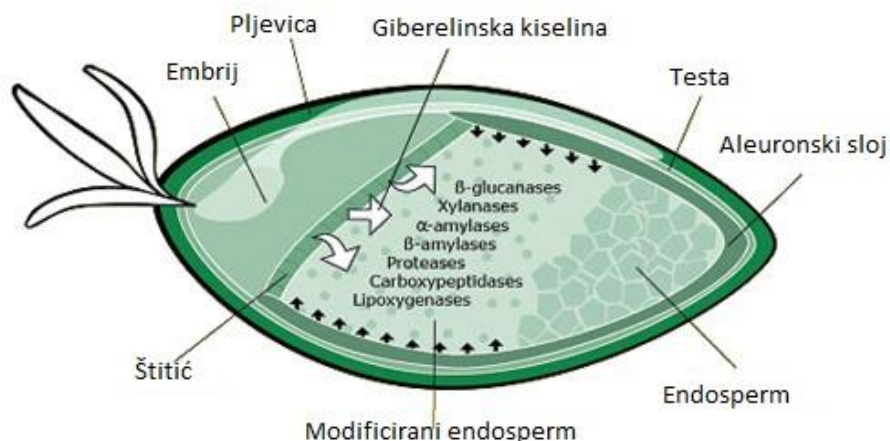
2.2.3. Enzimska razgradnja endosperma zrna ječma

U procesu slađenja ječmam prolazi kroz kontrolirano ograničeni proces klijanja u koji su uključeni brojni enzimi. Djelovanjem enzima dolazi do razgradnje staničnih stijenki endosperma, te oslobađanja škrobnih granula. Sve to dovodi do slabljenja endosperma, a naziva se modifikacija endosperma (Gamlath i sur., 2008.; Šimić, 2009.).

Stupanj hidratacije i difuzija enzima unutar endosperma ključni su za uspješan proces modifikacije, a to i je ključ u proizvodnji slada (Šimić, 2009.). Uvjeti uzgoja ječma uz genetski potencijal sorte, također, imaju utjecaj na modifikaciju endosperma (Edney i sur., 2007.).

Na složeni fiziološki proces (metabolizam) zrna tijekom klijanja utječe veliki broj biljnih hormona (Enari i Sopanen, 1986.). Biosinteza enzima događa se pomoću hormona koji iz embrija dolaze u endosperm. Djelovanjem giberelinske kiseline i tvarima sličnim giberelinima oslobađaju se aminokiseline i sintetiziraju enzimi. Za proizvodnju slada najznačajnije su reakcije razgradnje škroba, proteina i hemiceluloza (Kunze, 1994.).

Pojam dijastatska snaga se koristi kako bi se opisao zajednički utjecaj enzima za razgradnju škroba do fermentabilnih šećera. Tijekom slađenja i ukomljavanja prepoznata su četiri enzima sa utjecajem na škrob, α -amilaza, β -amilaza, limit dekstrinaza te α -glukozidaza (Osman i sur., 1996.; Fox, 2010.). U zrnu ječma nije dokazana prisutnost α -amilaze, a njena osnovna količina nastaje 2. do 4. dana klijanja te joj se kasnije aktivnost povećava (Kunze, 1994.). α -amilaze su endo-enzimi koji nasumice djeluju na α -(1,4)-glikozidne veze u lancu ostavljajući terminalni šećer u α -konfiguraciji (Šimić, 2009.). Ovaj enzim sastoji se od više izoenzimskih oblika od kojih su značajne I i II grupa. U prvim satima klijanja α -amilaza II otpušta se iz štitića (slika 4), a nakon prvoga dana klijanja aleuronski sloj postaje glavni izvor α -amilaze. Mogućnost nastanka α -amilaze II uvelike ovisi o giberelinskoj kiselini (Munck i sur., 1981.; Fox, 2010.).



Slika 4 Proizvodnja enzima tijekom slađenja (Aastrup i sur., 2004.)

Enzim β -amilaza prisutan je u velikoj količini u ječmu i prije slađenja, a njegovo naknadno nastajanje je u direktnoj vezi sa disanjem zrna. Upravo je to razlog zašto se u prvim fazama klijanja provjetrava zrno (Kunze, 1994.). β -amilaza je egzo-enzim koji odcjepljuje disaharid maltozu s nereducirajućih krajeva amiloze i amilopektina. U zrnu ječma dolazi ili u slobodnom, ili u vezanom obliku. Prema nekim autorima koje navodi Fox (2010.), vezani oblik je pričvršćen za matriks hordeina te se djelovanjem proteinaza tijekom klijanja on otpušta.

Škrob se pomoću α -amilaze brzo hidrolizira do linearnih i razgranatih dekstrina. Potom se linearni dekstrini razgrađuju djelovanjem β -amilaze. Djelovanjem β -amilaze odcjepljuje se maltoza koju hidrolizira α -glukozidaza (utječe na α -(1,4) veze) do glukoze. Razgranate dekstrine, kako bi postali pristupačni za djelovanje β -amilaze, prvo „napada“ limit dekstrinaza (pululanaza) razarajući α -(1,6) glikozidne veze (Enevoldsen i Schmidt, 1973.; Serre i Lauriere, 1989.; Šimić, 2009.).

Prilikom klijanja dolazi do razgradnje proteina sve do aminokiselina, a one se iskorištavaju za sintezu novih tkiva ili, ako govorimo o sladu, za kasniju fermentaciju piva. Razgradnja proteina odvija se paralelno sa razgradnjom endosperma te se ne kontrolira zasebno. Razgradnja matriksa proteina, u kojemu su smještene škrobne granule, omogućava hidrolizu škroba djelovanjem α -amilaze. Tijekom klijanja ječma najmanje 60-ak vrsta peptidaza sudjeluje u hidrolizi skladišnih bjelančevina, a s obzirom na mjesto cijepanja veza razlikujemo

endopeptidaze i egzopeptidaze (Enari i Sopanen, 1986.; Kunze, 1994.; Strelec, 2004.; Šimić, 2009.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Ispitati utjecaj karakteristike sortne skupine ječma na citolitičku razgradnju zrna tijekom slađenja, praćenjem promjena vrijednosti njezinih ključnih pokazatelja. Pomoću dobivenih rezultata (friabilnosti, ekstrakta, razlike ekstrakta, viskoznosti, β -glukana) bit će moguće ustanoviti postoji li razlika između sortnih skupina, te kako one utječu na kvalitetu slada.

3.2. MATERIJAL I METODE

Ispitivano je dvadeset pet uzoraka ječma koji su prikupljeni iz sortnih pokusa Poljoprivrednog instituta Osijek. Uzorci se mogu razvrstati prema namjeni u pivarske, stočne, odnosno višenamjenske sorte. Najveći broj uzoraka pripada stočnim sortama. Radi bolje preglednosti svi uzorci, i kategorija kojoj pripadaju, navedeni su u tablici 4.

Dodatno, uzorci koji su korišteni za slađenje i analizu slada razlikuju se prema tipu sezonskog rasta i položaju zrna oko centralnog vretena klasa. Prema tablici 4 vidljivo je da najviše uzoraka pripada ozimim dvorednim sortama. Osim ozimih dvorednih sorti, ispitan je manji broj višerednih ozimih i dvorednih jarih sorti. Od ukupnog broja, četiri sorte su kontrolni uzorci (Vanessa, Tiffany, Casanova, Sandra) i sve pripadaju ozimim sortama. Dva uzorka pripadaju golozrnom tipu ječma (Osvit, Osk. 5.119/10-12).

Prvi korak je priprema uzorka. Prikuplja se ječam svake sorte (s lokacije u Osijeku) nakon čega se sprema kao dorađeno i netretirano zrno. Do analize se čuva na suhom i hladnom kako bi se prevladala poslije žetvena „pospanost“ zrna.

Sva ispitivanja odrađena su na Poljoprivrednom institutu Osijek. Gotovo sve analize su vezane uz slad, dok je na ječmu određena samo vlaga i masa 1000 zrna te sadržaj β -glukana. Prvo su se uzorci „modificirali“ u procesu slađenja, a dobiveni slad prošao je proces dorade. Za određivanje ekstrakta, razlike ekstrakta i viskoznosti slad je podvrgnut procesu ukomljavanja kongresnom metodom.

Tablica 4 Uzorci ječma za slađenje i analizu slada

1	Bravo	Stočni	Ozimi dvoredni
2	Bingo	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
3	Barun	Stočni	Ozimi dvoredni
4	Maxim	Stočni	Ozimi dvoredni
5	Rex	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
6	Lukas	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
7	Gazda	Stočni	Ozimi dvoredni
8	Tuna	Stočni	Ozimi dvoredni
9	Maestro	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
10	Lord	Stočni	Ozimi višeredni
11	Titan	Stočni	Ozimi višeredni
12	Oliver	Stočni	Ozimi višeredni
13	Matej	Stočni	Jari dvoredni
14	Ikar	Višenamjenski	Jari dvoredni
15	Stribor	Stočni	Jari dvoredni
16	Jaran	Stočni	Jari dvoredni
17	Dado	Višenamjenski	Jari dvoredni
18	Pivarac	Pivarski	Jari dvoredni
19	Vanessa (kontrola)	Pivarski	Ozimi dvoredni
20	Tiffany (kontrola)	Pivarski	Ozimi dvoredni
21	Casanova (kontrola)	Pivarski	Ozimi dvoredni
22	Sandra (kontrola)	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
23	OSK.6.61/4-13	Višenamjenski	Ozimi dvoredni
24	OSK.5.119/10-12	Stočni	Ozimi dvoredni
25	Osvit	Stočni	Ozimi dvoredni

3.2.1. Mikroslađenje

Mikroslađenje ječma obavljeno je na institutu u Osijeku po uobičajenom standardnom postupku. Procesni parametri po kojima se odvijalo slađenje prikazani su u tablici 5. Ukupno trajanje procesa je nepunih tjedan dana. Korišteno je 250 grama svakoga pojedinog uzorka ječma za proizvodnju slada (slika 4).

Tablica 5 Procesni parametri mikroslađenja

MOČENJE			
Faze	Protok zraka (%)	Temperatura (°C)	Vrijeme (h)
Prva faza pod vodom	-	16	5
Prva faza zračnog odmaranja	100	17	12
Druga faza pod vodom	-	17	6
Druga faza zračnog odmaranja	100	18	12
Treća faza pod vodom	-	17	2
Treća faza zračnog odmaranja	-	-	-
KLIJANJE			
Prva faza klijanja	75	17	96
Vrijeme između okretanja	-	-	2
Broj rotacija po okretanju	3		
SUŠENJE			
Prva faza sušenja	100	60	6
Druga faza sušenja	100	65	3
Treća faza sušenja	90	68	2
Četvrta faza sušenja	90	70	2
Peta faza sušenja	50	80	2
Šesta faza sušenja	50	83	2
Sedma faza sušenja	40	85	1



Slika 5 Ječam tijekom pripreme za mikroslađenje

3.2.2. Određivanje fizikalnih svojstava slada

3.2.2.1 Masa 1000 zrna

U uređaj za prebrojavanje zrna usipa se određena količina cijelih zrna slada bez primjesa. Kad uređaj odbroji petsto zrna zaustavi se, te se odvagane masa uzorka. Rezultat množenja dobivene vrijednosti mase sa dva predstavlja masu 1000 zračno suhих zrna.

Formula za izračunavanje mase 1000 zrna izraženo na suhu tvar je sljedeći:

$$M = m - \left(m * \frac{V}{100}\right) [g]$$

gdje je m- masa 1000 zrna [g], V- sadržaj vlage u sladu [%]. Isti postupak se primjenjuje za ispitivanje mase 1000 zrna ječma. Prethodno je određen sadržaj vlage na halogen analizatoru vlage.

3.2.2.2 Friabilnost

Prhkost (friabilnost) se određuje na uređaju za mjerenje friabilnosti po EBC metodi (4.15). Odvaž se 50 grama slada (s točnošću $\pm 0,1$) i postavi u uređaj, gdje se odvija fragmentiranje zrna mehaničkim djelovanjem. Trajanje procesa je osam minuta nakon čega se uređaj

automatski zaustavi. Potom se pristupa vaganju nedovoljno razgrađenih dijelova zrna slada, odnosno onih koji su zaostali unutar bubnja.

Friabilnost se računa prema formuli i izražava u postocima:

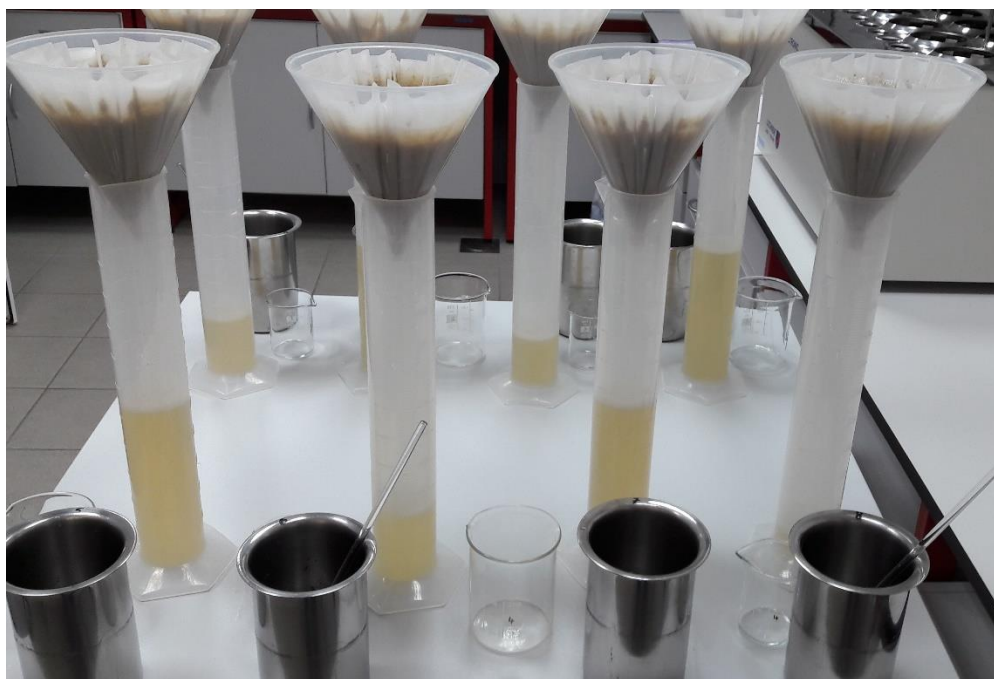
$$F = 100 - 2 * A [\%]$$

gdje je A-masa nerazgrađenih dijelova koji su zaostali u sitastom bubnju [g]

3.2.3. Fizikalno-kemijske analize slada

3.2.3.1 Kongresna metoda ukomljavanja

Proces komljenja slada omogućava nam da ustanovimo razgrađenost sastojaka endosperma. Kongresna metoda uključuje mljevenje slada na dva načina u posebnim mlinovima. Prvim postupkom se dobiva fino usitnjen uzorak s 90% brašna, a drugi podrazumijeva uzorak s 25% brašna. Za analizu se uzima 50 grama samljevenog uzorka (fina i gruba meljava), koji se ukomljavaju u posebnim posudama s 200ml destilirane vode. Ukomljavanje na 45°C traje 30 minuta, nakon čega se sljedećih 25 minuta temperatura postepeno povećava do 70°C. Ponovno se dodaje destilirana voda te se ista temperatura održava idućih sat vremena. Slijede postupci filtriranja sladovine (slika 5) i određivanja gustoće (slika 6).



Slika 6 Filtriranje sladovine dobivene kongresnom metodom



Slika 7 Određivanje gustoće sladovine dobivene kongresnom metodom

Količina ekstrakta (EBC metoda 4.5.1) izražava se prema formulama:

$$E_1 = \frac{P(M+800)}{100-P} \quad [\%]$$

E_1 -sadržaj ekstrakta u uzorku [%], P -sadržaj ekstrakta u sladovini [*Plato*], M -sadržaj vlage slada [%], 800-količina destilirane vode dodane na 100g slada

$$E_{s.t.} = \frac{E_1 \cdot 100}{100-M} \quad [\%]$$

$E_{s.t.}$ -sadržaj ekstrakta na suhu tvar [%].

Što je bolja razgrađenost slada to će razlika ekstrakta biti manja. To je povezano s činjenicom da stupanj usitnjavanja ima manji utjecaj na prijelaz ekstrakta u sladovinu. Razlika ekstrakta (EBC metoda 4.5.2) računa se preko razlike vrijednosti ekstrakta fino samljevenog slada i vrijednosti ekstrakta grubo samljevenog slada.

$$E_d = E_f - E_g \quad [\%]$$

3.2.3.2 Viskoznost

Nakon analiziranja gustoće sladovine i preračunavanja u sadržaj ekstrakta, sljedeća analiza podrazumijeva određivanje viskoznosti. Viskoznost kongresne sladovine ključan je tehnološki pokazatelj razgradnje hemiceluloza. Uređaj na kojemu se odrađuje analiza je automatizirani mikroviskozimetar. Uređaj se sastoji od kapilare i padajuće kuglice, a za mjerenje je potrebna vrlo mala količina uzorka sladovine. Viskozimetar radi na Hoppler-ovom principu padajuće kuglice, izmjerene vrijednosti izražene su u mPas.

3.2.3.3 β -glukani

β -glukani su ispitivani upotrebom komercijalnog enzimskoga kita, što je službena EBC metoda (3.11.1, 4.16.1) Metoda započinje vaganjem uzorka u kivete uz dodatak etanola i natrijevog fosfata, te se vorteksira. Nastavak postupka uključuje inkubiranje na vodenoj kupelji i vorteksiranje (tri minute). Slijedi inkubiranje na 50°C uz vorteksiranje svakih petnaest minuta (kroz jedan sat), a nakon dodatka enzima lihenaze ponovi se postupak. Istekom vremena dodaje se natrijev acetat i ponovno se uzorak vorteksira, a potom slijedi centrifugiranje. U tri kivete se podijeli alikvot s time da se u dvije dodaje β -glukozidaza, a u preostalu kivetu se doda natrijev acetat. Inkubira se deset minuta (50°C).

Dodatno, potrebno je pripremiti dvije kivete s glukoznim standardom natrijevog acetata i jednu s natrijevim acetatom. Prije mjerenja apsorbancije još se doda reagens (GOPOD) uz inkubiranje dvadeset minuta (50°C). Slijedi mjerenje uz slijepu probu te izračunavanje.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI ANALIZA

Tablica 6 Rezultati analiza, uzorci od 1 do 10

Br.	Sorta		m ₁₀₀₀ suh. tv. (g)	β- glukan (g/100 g s.t.)	Friabilnost (%)	Ekstrakt fina meljava (% s.t.)	Ekstrakt gruba meljava (% s.t.)	Razlika ekstrakta (% s.t.)	Viskoznost (mPa·s)
1	Bravo	ječam	41,88	4,22	52,42	79,17	74,93	4,24	2,290
		slad	38,84	1,69					
		Δ	3,04	2,53					
2	Bingo	ječam	38,02	4,07	36,70	78,84	72,86	5,98	2,257
		slad	36,47	2,72					
		Δ	1,55	1,35					
3	Barun	ječam	34,95	3,52	45,68	77,69	73,26	4,44	1,713
		slad	32,47	1,63					
		Δ	2,48	1,89					
4	Maxim	ječam	42,37	4,05	22,78	79,09	72,78	6,31	2,370
		slad	39,94	2,54					
		Δ	2,43	1,51					
5	Rex	ječam	38,72	5,49	13,94	77,64	68,86	8,78	2,338
		slad	35,74	2,90					
		Δ	2,98	2,59					
6	Lukas	ječam	42,55	4,13	34,54	80,35	74,57	5,78	2,158
		slad	39,16	1,87					
		Δ	3,39	2,26					
7	Gazda	ječam	39,75	3,86	27,7	77,76	71,59	6,17	2,081
		slad	36,13	2,01					
		Δ	3,62	1,25					
8	Tuna	ječam	37,9	4,14	32,18	76,98	69,78	7,20	1,870
		slad	33,3	2,16					
		Δ	4,6	1,98					
9	Maestro	ječam	37,08	4,17	49,80	80,02	75,58	4,44	1,984
		slad	35,08	1,53					
		Δ	2	2,64					
10	Lord	ječam	42,06	4,07	40,82	79,72	75,47	4,25	1,987
		slad	38,65	2,05					
		Δ	3,41	2,02					

Tablica 7 Rezultati analiza, uzorci od 11 do 19

Br.	Sorta		m ₁₀₀₀ suh. tv. (g)	β- Glukan (g/100 g s.t.)	Friabilnost (%)	Ekstrakt fina meljava (% s.t.)	Ekstrakt gruba meljava (% s.t.)	Razlika ekstrakta (% s.t.)	Viskoznost (mPa·s)
11	Titan	ječam	33,18	4,09	41,02	78,14	72,17	5,97	2,108
		slad	34,28	1,96					
		Δ	-1,1	2,13					
12	Oliver	ječam	36,81	4,22	36,28	78,71	72,08	6,63	1,912
		slad	32,59	1,87					
		Δ	4,22	2,35					
13	Matej	ječam	42,58	4,06	55,36	81,46	77,51	3,95	1,818
		slad	38,99	1,27					
		Δ	3,59	2,79					
14	Ikar	ječam	43,15	4,50	64,8	81,93	79,02	2,91	1,714
		slad	39,09	1,35					
		Δ	4,06	3,15					
15	Stribor	ječam	40,18	4,18	57,92	81,44	77,70	3,74	1,842
		slad	36,36	0,83					
		Δ	3,82	3,35					
16	Jaran	ječam	39,03	4,15	46,36	78,21	71,92	6,29	1,687
		slad	35,32	1,40					
		Δ	3,71	2,75					
17	Dado	ječam	43,03	5,11	63,44	81,18	77,55	3,63	1,699
		slad	38,77	1,22					
		Δ	4,26	3,89					
18	Pivarac	ječam	40,43	4,80	77,14	82,14	80,47	1,67	1,557
		slad	35,79	0,83					
		Δ	4,64	3,97					
19	Vanessa	ječam	40,39	3,63	64,94	79,57	76,77	2,80	1,519
		slad	36,34	1,02					
		Δ	4,05	2,61					

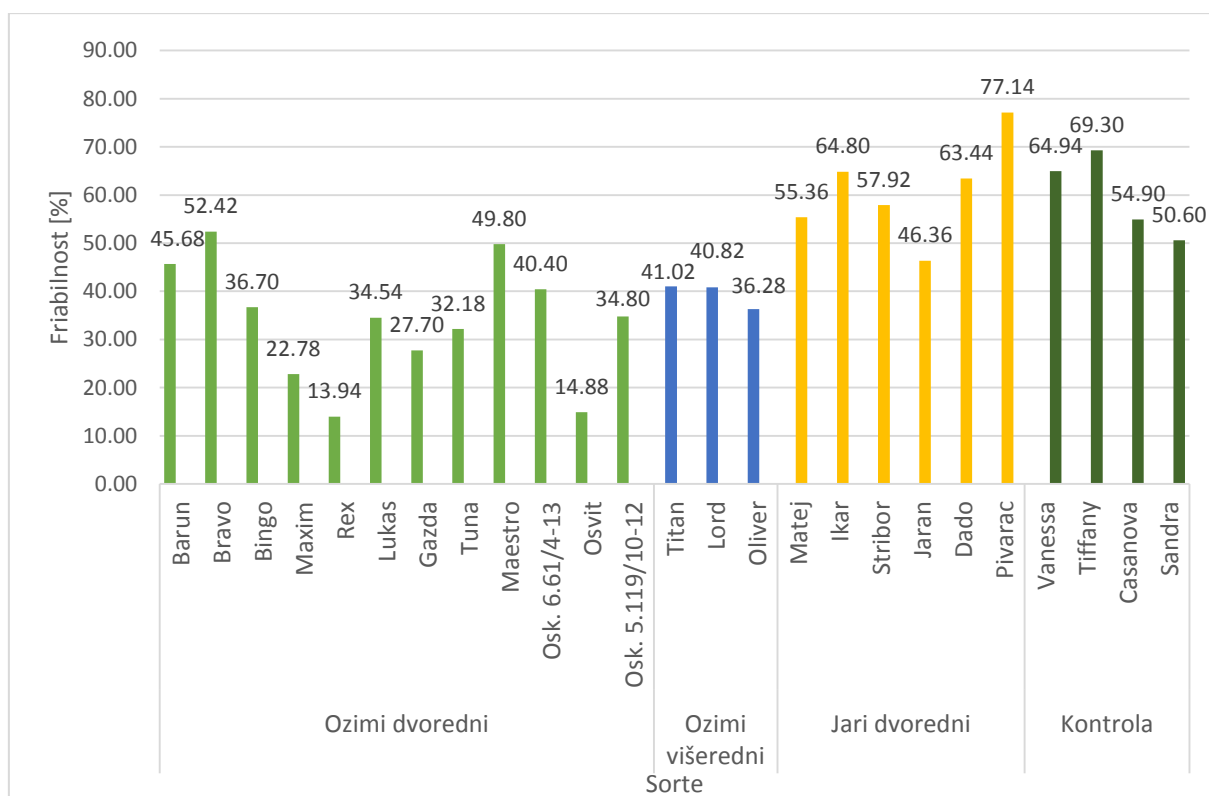
Tablica 8 Rezultati analiza, uzorci od 20 do 25

Br.	Sorta		m ₁₀₀₀ suh. tv. (g)	β- Glukan (g/100 g s.t.)	Friabilnost (%)	Ekstrakt fina meljava (% s.t.)	Ekstrakt gruba meljava (% s.t.)	Razlika ekstrakta (% s.t.)	Viskoznost (mPa·s)
20	Tiffany	ječam	39,67	3,55	69,3	79,26	76,67	2,59	1,516
		slad	34,23	0,83					
		Δ	5,44	2,72					
21	Casanova	ječam	44,77	3,92	54,9	79,48	77,40	2,08	1,654
		slad	44,17	1,05					
		Δ	0,6	2,87					
22	Sandra	ječam	47,53	4,55	50,6	80,27	76,95	3,32	1,976
		slad	43,03	1,85					
		Δ	4,5	2,70					
23	OSK.6.61/4-13	ječam	41,84	3,18	40,4	79,77	75,00	4,77	1,784
		slad	40,08	1,91					
		Δ	1,76	1,27					
24	OSK.5.119/10-12	ječam	38,17	4,51	34,8	82,96	76,10	6,86	2,670
		slad	33,82	2,93					
		Δ	4,35	1,58					
25	Osvit	ječam	38,12	4,83	14,88	83,31	73,8	9,51	3,220
		slad	35,71	2,78					
		Δ	2,41	2,05					

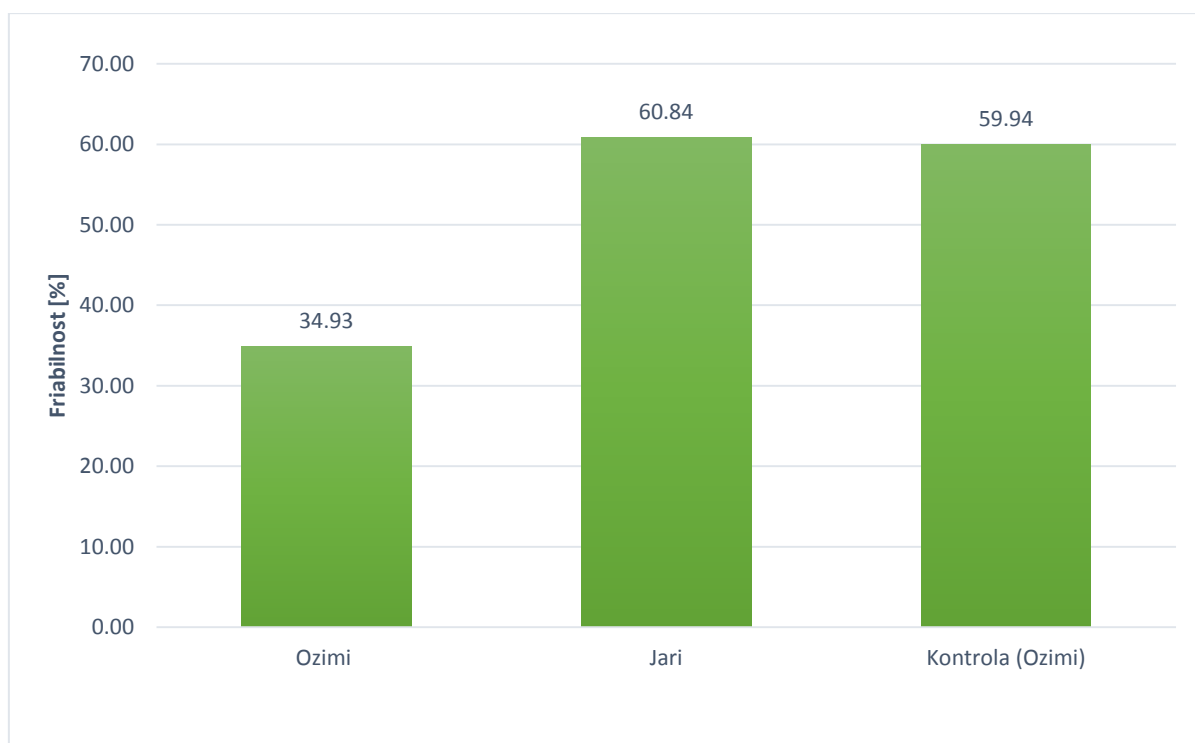
4.2. OBRADA REZULTATA

Friabilnost slada ukazuje na stupanj razgrađenosti endosperma zrna. Slad dobre kakvoće trebao bi imati vrijednost friabilnosti iznad 80% (Kunze, 1994.; Marić, 2000.). Prema dijagramu (slika 8) ni jedan uzorak slada nije postigao zadanu vrijednost. Najveću friabilnost postigla je sorta Pivarac (77,14%) koja je klasificirana kao pivarska. Pivarske sorte su postigle više rezultate u odnosu na ostale. Od ostalih uzoraka posebno se ističe Stribor, stočna sorta, s rezultatom friabilnosti 57,92%. S druge strane, najniže vrijednosti postigle su sorte Rex (višenamjenska) i Osvit (golozrna sorta).

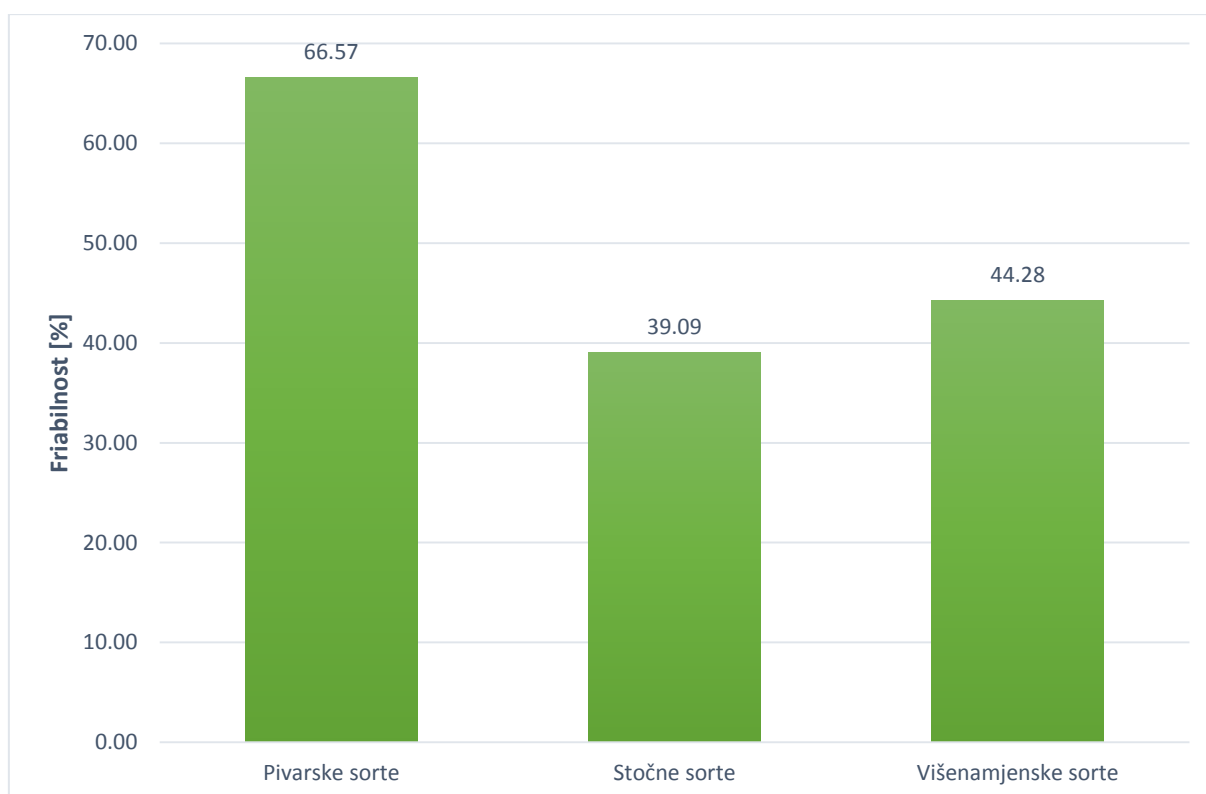
Prosječna friabilnost jarog slada je 60,84%, a ozimog slada, u kojemu nisu uključeni rezultati kontrolnih uzoraka, 30,49% (Slika 9). Sljedeći dijagram (slika 10) jasno prikazuje da je friabilnost najbolja kod slada dobivenog od pivarskih sorti ječma. Uspoređujući višenamjenske i stočne sorte, nešto viši rezultat primjećuje se kod višenamjenskih sorti.



Slika 8 Friabilnost slada svih uzoraka ječma nakon mikroslađenja



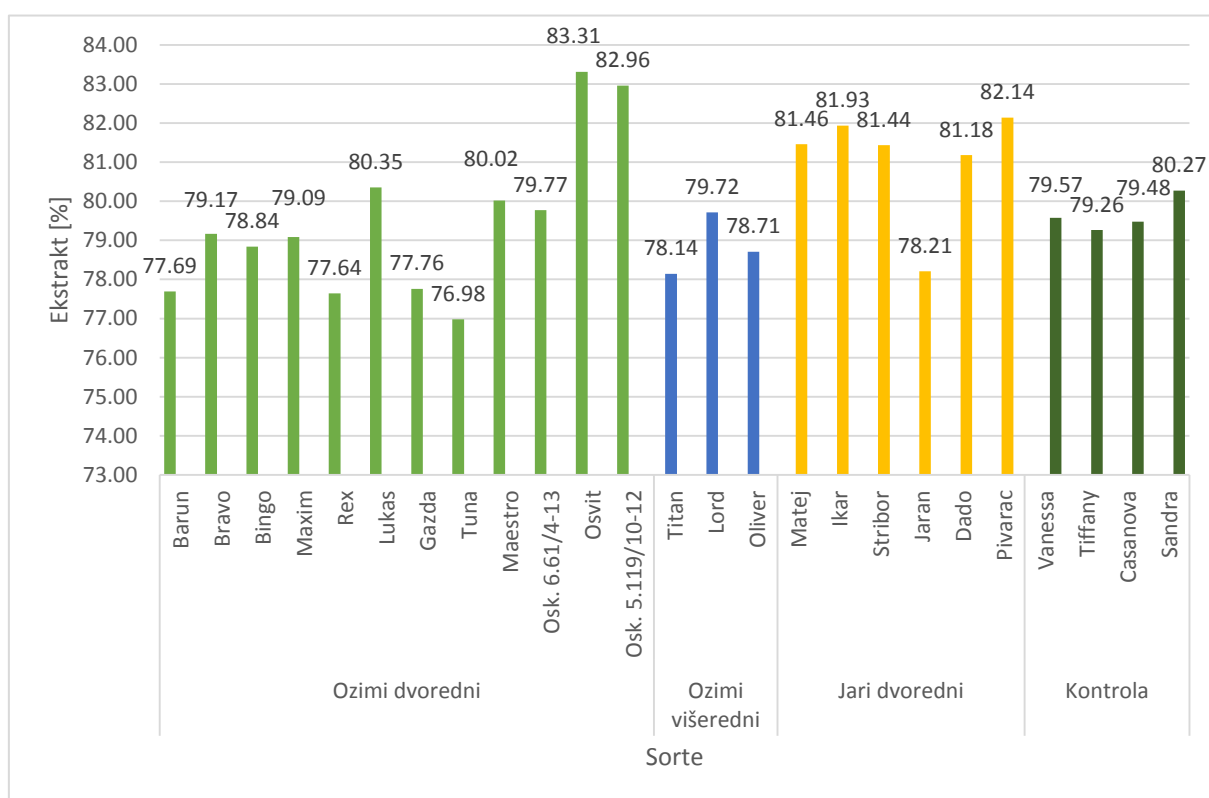
Slika 9 Prosječne vrijednosti friabilnosti slada s obzirom na vrijeme sjetve ječma



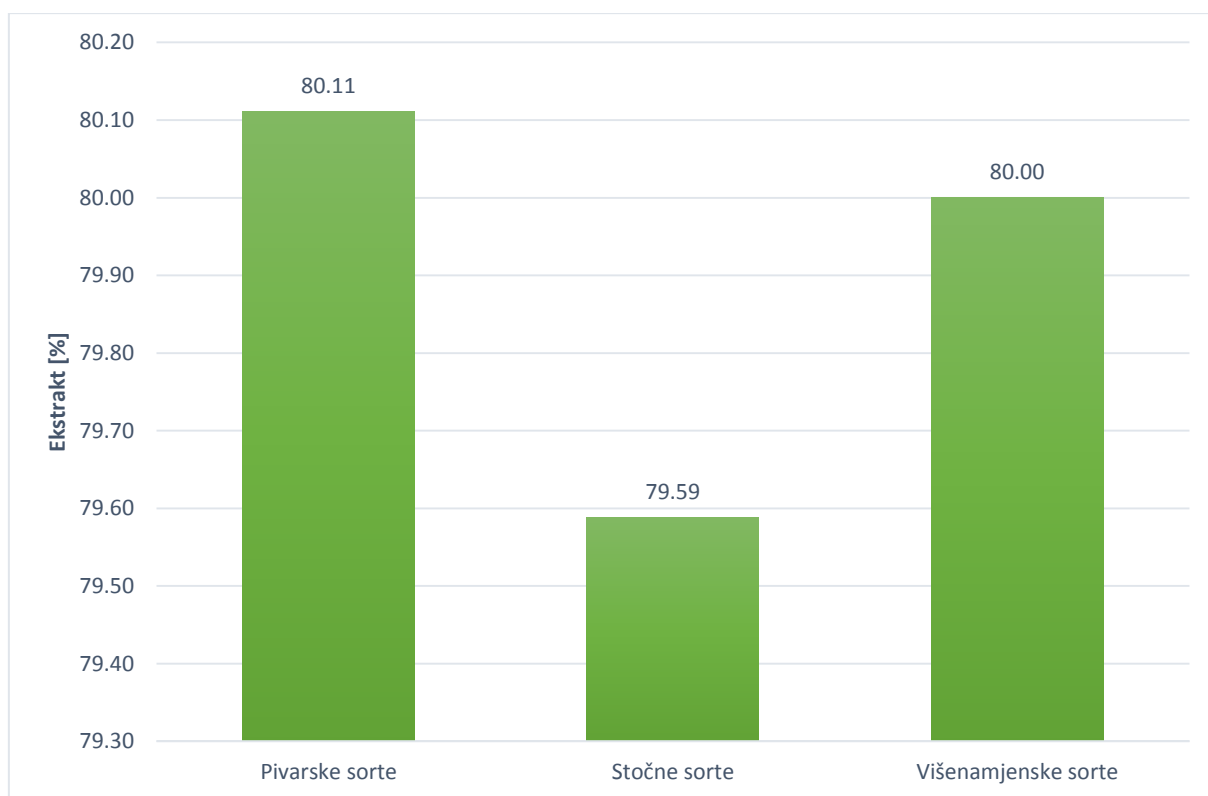
Slika 10 Prosječne vrijednosti friabilnosti slada s obzirom na namjenu sorte

Kao dobar pokazatelj uspješno provedenog procesa slađenja ističe se sadržaj ekstrakta. Slad dobre pivarske kakvoće trebao bi imati preko 80% ekstrakta (Marić, 2000.). Najveća količina ekstrakta zabilježena je kod golozrnih tipova Osvit (83,31%) i Osk. 5.119/10-12 (82,96%). Od pivarskih sorti Pivarac ima najveći sadržaj ekstrakta s 82,14%, dok se kod višenamjenskih sorti ističe Ikar s 81,93%. Od ostalih sorti prema rezultatima ekstrakta kao pivarske, uvjetno, bi se mogle označiti Stribor, Matej, Dado, Lukas i Maestro.

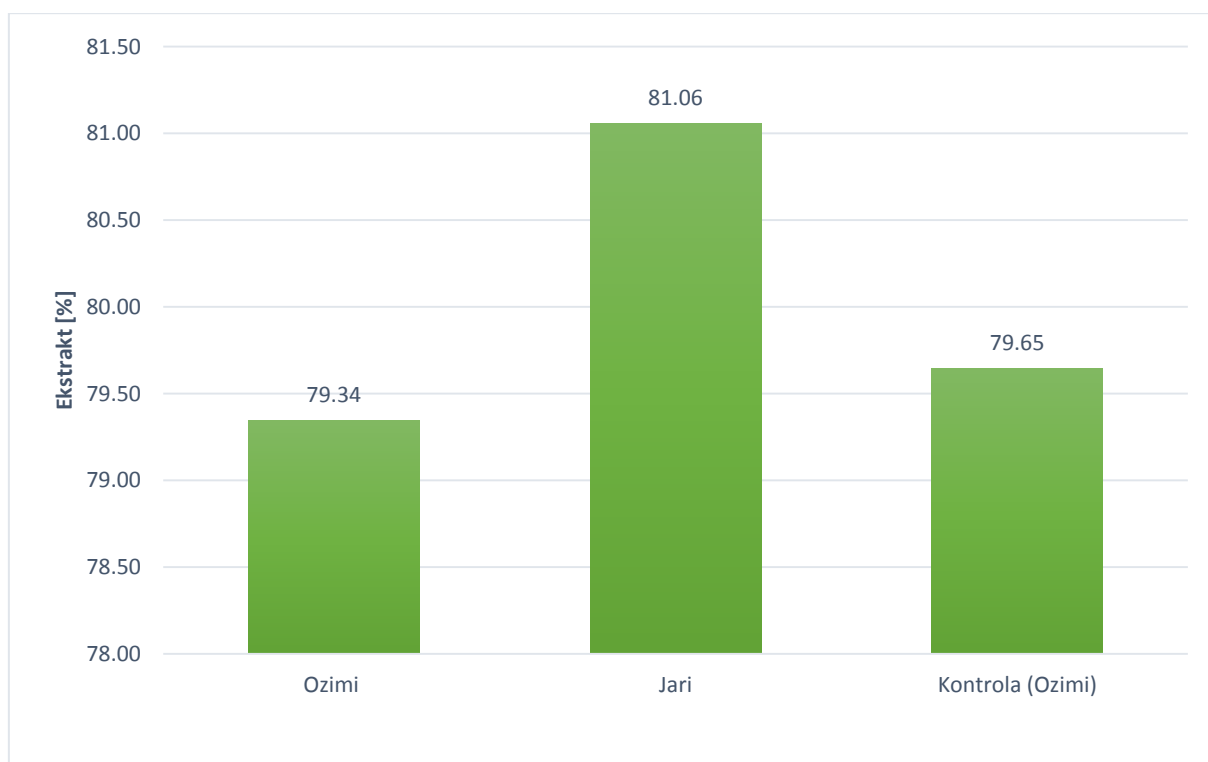
Ako gledamo prosječni sadržaj ekstrakta s obzirom na namjenu (slika 12), odnosno vrijeme sjetve ječma (slika 13), ponovno imamo jednaku situaciju kao s friabilnosti. Prosječna vrijednost ekstrakta pivarskih sorti iznosi 80,11%, slijede višenamjenske s točno 80,00% ekstrakta. Značajnija razlika je postignuta ako usporedimo jare (81,06%) i ozime sorte u koje nisu uključeni kontrolni uzorci (79,34%).



Slika 11 Sadržaj ekstrakta u uzorcima slada



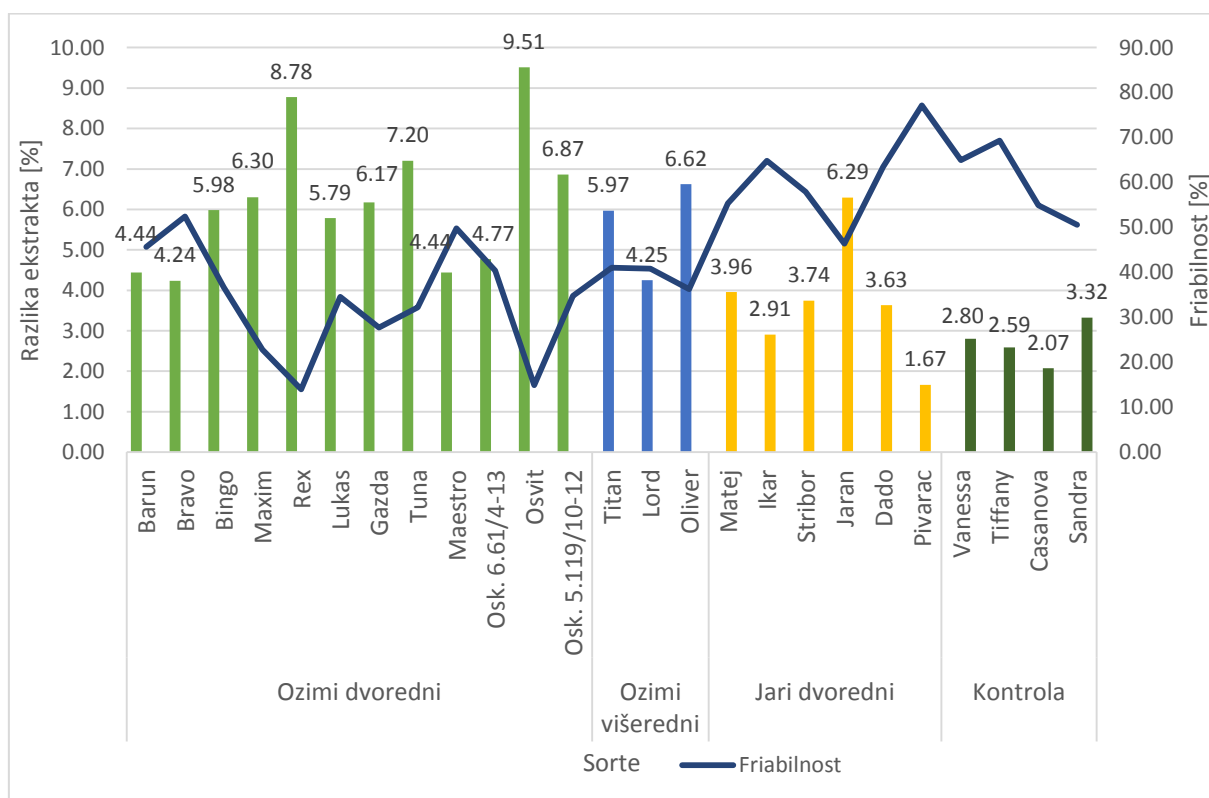
Slika 12 Prosječni sadržaj ekstrakta slada s obzirom na namjenu sorte



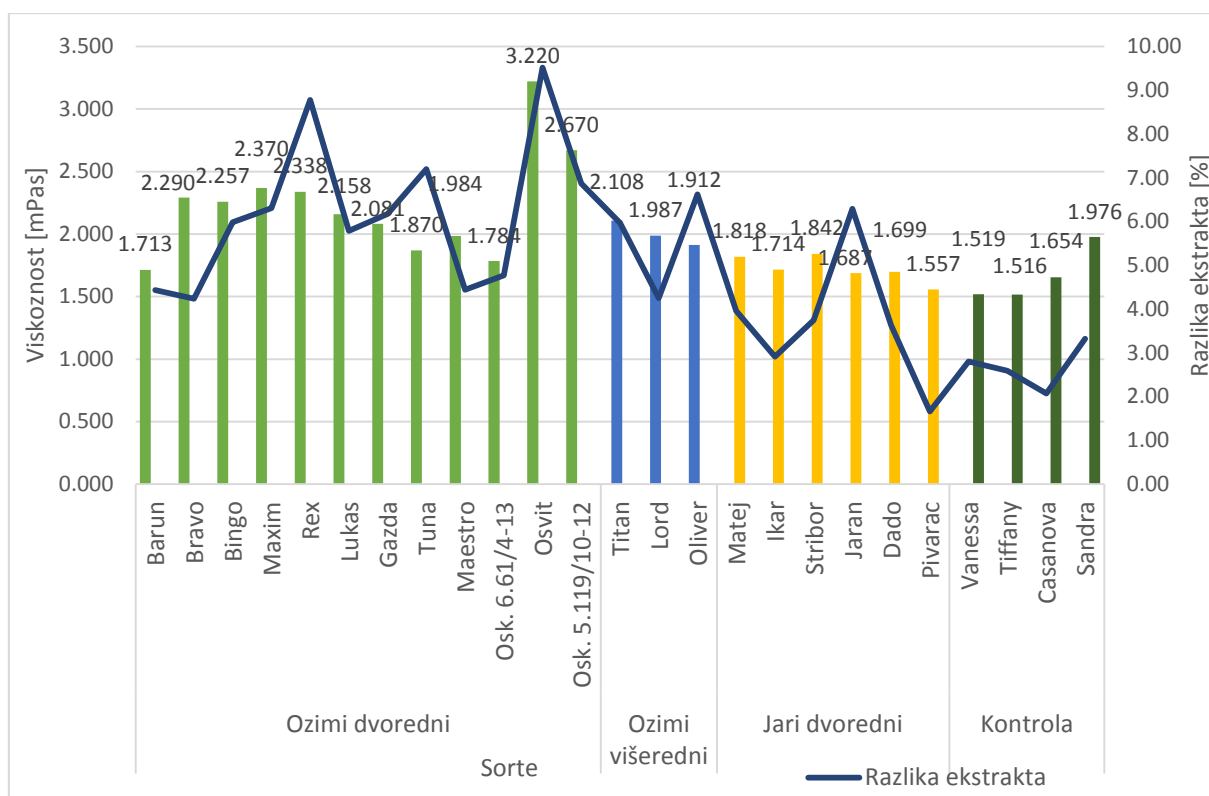
Slika 13 Prosječna količina ekstrakta s obzirom na vrijeme sjetve ječma

Razlika ekstrakta ključan je pokazatelj citolitičke razgrađenosti slada, što ujedno znači da je dobar pokazatelj njegove kakvoće. Što je manja razlika ekstrakta između fine i grube meljave slada to je slad bolje razgrađen. Prema tome najbolje razgrađeno zrno slada pokazuje Pivarac s razlikom ekstrakta od 1,67%, što je ujedno i jedina sorta s razlikom manjom od 1,8% (maksimalna preporučena vrijednost). Razlika ekstrakta manja od 3% zabilježena je još samo kod kontrolnih uzoraka i višenamjenske sorte Ikar.

Najveću razliku ekstrakta od čak 9,51% ima golozrna sorta Osvit, a nešto nižu vrijednost sorta Rex. Na dijagramu (Slika 14) se jasno vidi da su upravo to sorte s najnižom friabilnošću. Također, sorta s najmanjom razlikom ekstrakta ima najvišu vrijednost friabilnosti. Iako postoje odstupanja, može se ustanoviti da kod ispitivanih uzoraka postoji značajna korelacija između ova dva parametra.



Slika 14 Odnos razlike ekstrakta i friabilnosti slada



Slika 15 Usporedba vrijednosti viskoznosti sladovine i razlike ekstrakta

Još jedan ključan pokazatelj citolitičke razgradnje je viskoznost kongresne sladovine. Prema Štefanić i Marić (1990.) viskoznost sladovine (preračunat na 8,6% kongresne sladovine) može se podijeliti u nekoliko kategorija u ovisnosti o stupnju razgrađenosti. Vrijednosti viskoznosti analiziranih uzoraka (slika 15) nalaze se u rasponu od 1,519 do 3,220 mPas. Najbolju razgrađenost pokazali su kontrolni ozimi uzorci Vanessa i Tiffany te po rezultatima pripadaju najvišoj kategoriji s vrlo dobrom razgrađenosti (<1,530 mPas). Minimalno odstupanje pokazuje Pivarac s 1,557 mPas, što ga svrstava u drugu kategoriju s dobrom razgrađenosti. Ostali uzorci, osim Casanove, pokazuju slabu razgrađenost zrna slada što je posebno izraženo kod golozrnih sorti.

Prosječni rezultati viskoznosti (slika 16), u ovisnosti o namjeni sorti, pokazuju jednako ponašanje kao i sve druge analize do sada opisane. Najbolju razgrađenost prema viskoznosti pokazuju pivarske sorte (1,560 mPas), slijede višenamjenske sorte (1,990 mPas) i na kraju stočne sorte (2,120 mPas).



Slika 16 Viskoznost sladovine kod različitih sortnih skupina

β -glukani se nalaze u stijenkama stanica endosperma ječma te značajno utječu na karakteristike slada. Najveće probleme uzrokuje makromolekularni gel koji ne mora biti u korelaciji s ukupnim sadržajem β -glukana (Kunze, 1994.).

U ovome radu određen je udio β -glukana u ječmu i sladu (slika 17). U uzorcima ječma sadržaj β -glukana je u rasponu od 3,18 (Osk. 6.61/4-13) do 5,49 (Rex) g/100g s.t.. Više vrijednosti u odnosu na ostale zabilježile su još dvije jare sorte (Dado, Pivarac) i golozrne sorte (Osvit, Osk. 5.119/10-12). Prema rezultatima istraživanja koje su proveli Krstanović i sur. (2016.), njemačke sorte (Tiffany, Vanessa) ostvarile su niže vrijednosti β -glukana u ječmu u odnosu na ostale ispitivane sorte. Takav odnos rezultata poklapa se s rezultatima ovoga rada ako se uzme u obzir da u spomenutom radu nije analizirana sorta Osk. 6.61/4-13. Sadržaj β -glukana u uzorcima nakon slađenja značajnije se promijenio. Najmanji udio ovih spojeva zabilježile su sorte Tiffany, Pivarac i Stribor (0,83 g/100g s.t.), dok je golozrna sorta Osk. 5.119/10-12 (2,93 g/100g s.t.) ostvarila najveći rezultat. Najveće razlike, ako se usporede rezultati ječma i slada, ostvarene su kod tri jare sorte (Pivarac, Dado, Ikar) od kojih je jedna klasificirana kao pivarska. Istraživanjem su Ellis i sur. (1997.) ustanovili da se razgradnja β -glukana u zrnju ostvarila razvojem β -glukanaze, a ukupni sadržaj β -glukana u zrnju nakon slađenja se promijenio za oko 50%. Šimić i sur. (2014.) objavili su rad u kojemu jedna sorta postiže najvišu (u ječmu) i najnižu (u sladu) vrijednost sadržaja β -glukana, isto tako ostvarila

je najveću aktivnost enzima β -glukanaze. Prema tome, iz razlike sadržaja β -glukana moglo bi se pretpostaviti da su jare sorte (Pivarac, Dado, Ikar) ostvarile najveću aktivnost enzima β -glukanaze.



Slika 17 Udio β -glukana u uzorcima ječma i slada

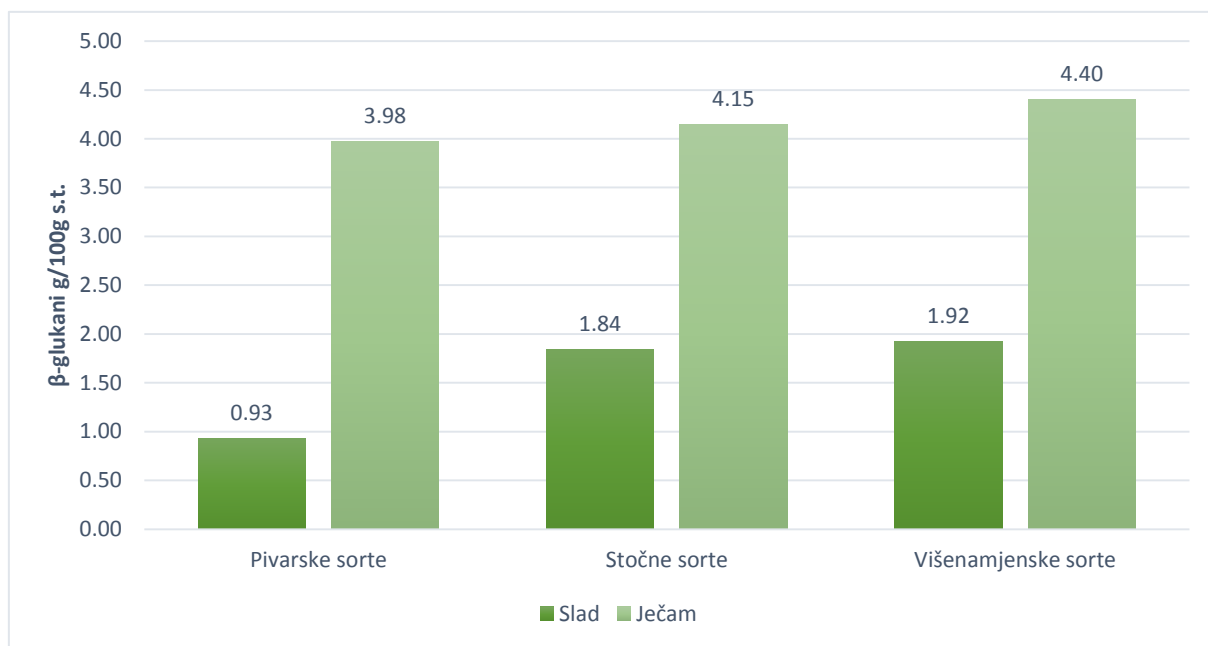
Pivarske sorte pokazuju bolje rezultate u odnosu na stočne i višenamjenske kod slada, ali i ječma, iako su razlike manje izražene kod ječma (slika 18). Prosječni udio β -glukana pivarskih sorti slada je 0,93 g/100g s.t., slijede stočne s 1,84 g/100g s.t., te višenamjenske s 1,92 g/100g s.t..

Analizirani jari ječam u prosjeku sadrži najviše β -glukana (4,47 g/100g s.t.), dok je najniži sadržaj zabilježen kod kontrolnih ozimih sorti (3,91 g/100g s.t.). Nakon slađenja prosječni sadržaj β -glukana kontrolnih uzoraka bio je 1,19 g/100g s.t., kod jarih sorti 1,15 g/100g s.t., te 2,21 g/100g s.t. kod ozimih sorti.

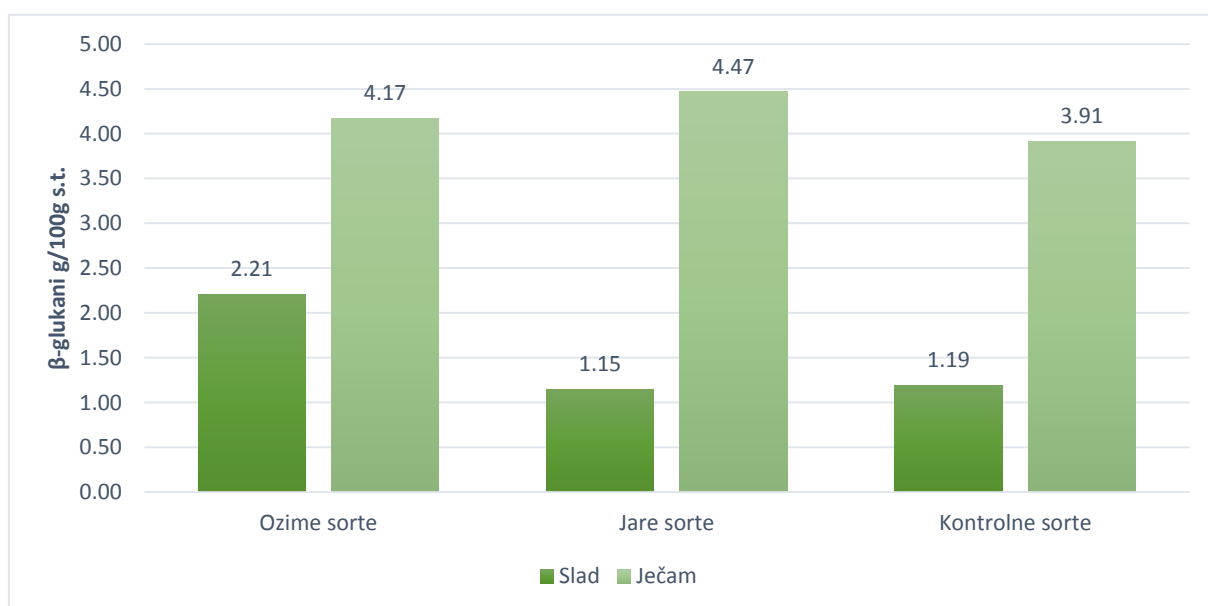
Slike 20 i 21 prikazuju odnos između razlike ekstrakta, odnosno viskoznosti i udjela β -glukana. Unatoč određenim odstupanjima, vidljiva je povezanost između promatranih parametara. Tako primjerice golozrne sorte uz sortu Rex, istovremeno, u odnosu na ostale imaju više vrijednosti razlike ekstrakta, viskoznosti i količine β -glukana u sladu, ali i niže

vrijednosti friabilnosti (Osvit, Rex) S druge strane najnižu viskoznost uz najniži sadržaj β -glukana postigla je sorta Tiffany.

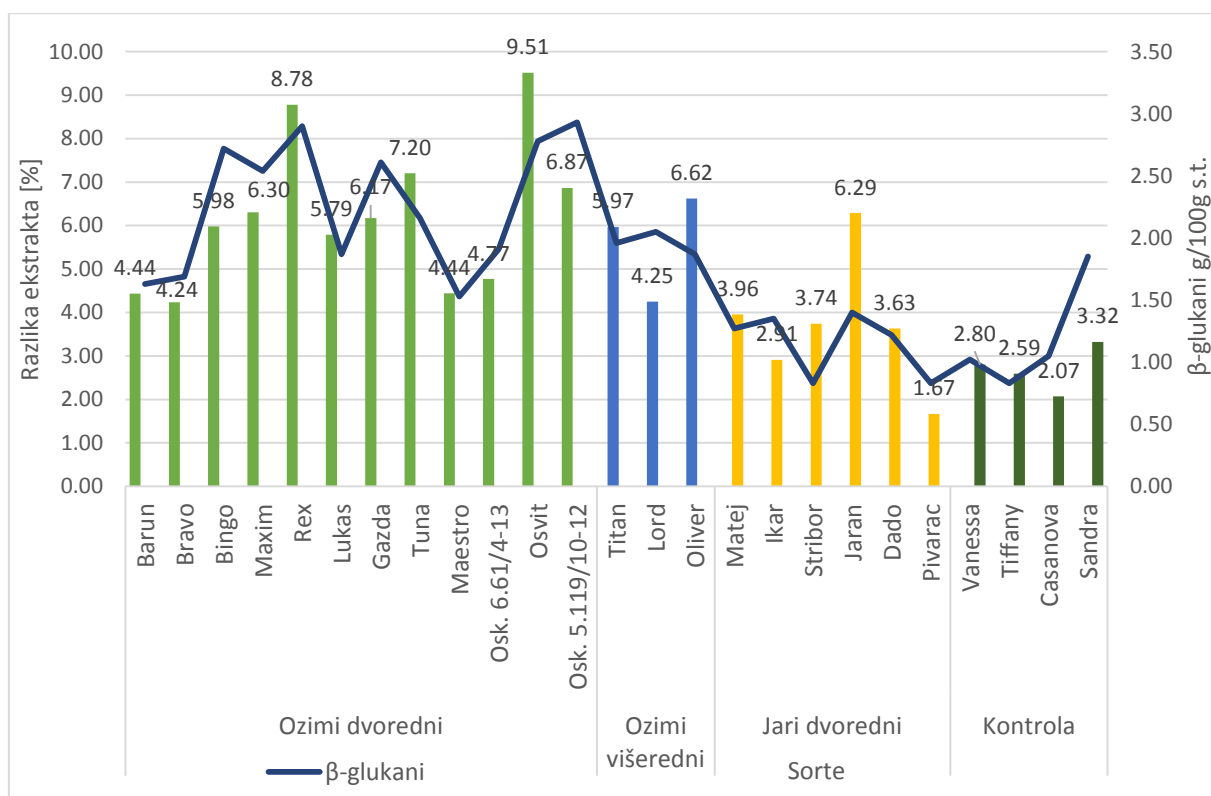
Prema Wang i sur. (2004.), ključan je sadržaj β -glukana u sladu i ujedno bolji parametar kakvoće nego sadržaj β -glukana u zrnu ječma. Upravo potvrđuje toga je sorta Pivarac koja je, unatoč visokom sadržaju β -glukana u zrnu ječma, u većini analiza postigla najbolje rezultate u pogledu sladarske kakvoće.



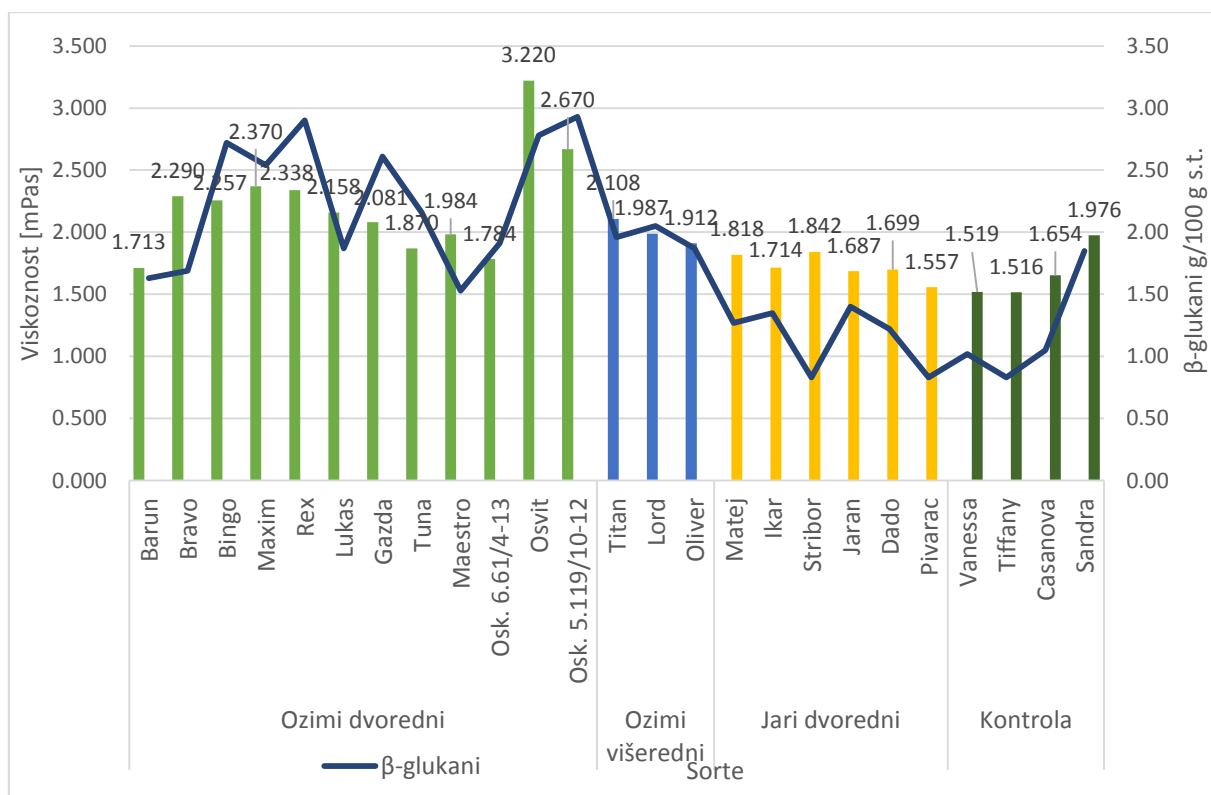
Slika 18 Prosječni udio β -glukana u pivarskim, stočnim i višenamjenskim sortama ječma i slada



Slika 19 Prosječni udio β -glukana u uzorcima ječma i slada s obzirom na vrijeme sjetve



Slika 20 Odnos razlike ekstrakta i sadržaja β-glukana slada



Slika 21 Odnos viskoznosti i sadržaja β-glukana slada

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Kontrolni uzorci, ukupno gledajući, postigli su najbolje rezultate viskoznosti, gdje se posebno ističe sorta Tiffany. Pivarske sorte su prema svim analiziranim pokazateljima sladarske kakvoće ostvarile bolje rezultate u odnosu na stočne i višenamjenske. Jare sorte pokazuju bolju razgrađenost od ozimih. Međutim, kontrolne ozime sorte pokazuju slično ponašanje poput jarih.
2. Pivarac (jara, pivarska sorta) prema parametrima sladarske kakvoće pokazuje najmanje oscilacije u provedenim analizama, što ukazuje na najbolju razgrađenost zrna.
3. Ustanovljena je korelacija između friabilnosti, razlike ekstrakta, viskoznosti i sadržaja β -glukana u sladu. Nije utvrđena povezanost mase 1000 zrna i ostalih parametara. Nije utvrđena povezanost količine β -glukana u ječmu sa ostalim pokazateljima sladarske kakvoće.

6. LITERATURA

- Aastrup, Sten, Noel Bautista, Elmar Janser, Kurt Dörreich: Choice of enzyme solution should determine choice of raw materials and process. World Brewing Conference, San Diego, USA, 2004.
- Akar T., Avci M., Dusunceli F.: Barley: Post-Harvest Operations. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, The Central Research Institute for Field Crops, Ankara, 2004.
- Baik B.K., Ulrich S.E.: Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science* 48:233–242, 2008.
- Bengtsson, B.O.: Barley genetics. *Trends in Genetics*, 8:3-5, 1992.
- Divjak T.: Usporedba klasičnih i novih metoda za analizu pivarskog ječma i slada , diplomski rad , Zagreb ,1-3, 6-7, 9, 2005.
- Edney M.J., Eglington J.K., Collins H.M., Barr A.R., Legge W.G., Rossnagel B.G.: Importance of Endosperm Modification for Malt Wort Fermentability. *Journal of the Institute of Brewing*, 113:228-238, 2007.
- Ellis R. P., Swanston J. S., Rubio A., Perez-Vendrell A. M., Romagosa L., Molina-Cano J. L.:The development of b-glucanase and degradation of b-glucan in barley grown in Scotland and Spain. *Journal of Cereal Science*, 26:75–82., 1997.
- Enari T.M., Sopanen T.: Mobilisation of endosperm reserves during germination of barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 92:25-31, 1986.
- Enevoldsen B.S., Schmidt F.: Dextrins in brewing. II.Distribution of oligo- and megaoligosaccharides during mashing inwort and in beer. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Slazburg, str. 135-148, 1973.
- European Brewery Convention, Analytica 5. ed. Fachverlag Hans Carl, D-Nürnberg, 1998.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014.). FAOSTAT Database, Rome, Italy, <http://faostat3.fao.org/home/E> (pristupljeno rujan 2017.).
- Fox G.P.: Chemical composition in Barley grains and malt quality, in *Genetics and Improvement of Barley Malt Quality* (Zhang, G. and Li, C. Eds) str. 63–98, Springer Science & Business Media, 2010.
- Gaćeša S.: Tehnologija slada sa sirovinama za tehnologiju piva. Poslovna zajednica industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd, 1979.
- Gagro M.: Ratarstvo obiteljskog gospodarstva: žitarice i zrnate mahunarke, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb 97-110,1997.
- Gagula G.: Određivanje udjela β -glukana u domaćim sortama pivarskog ječma, specijalistički rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2013.

- Gamlath J., Aldred G.P., Panozzo J.F.: Barley (1→3; 1→4)-β-glucan and arabinoxylan content are related to kernel hardness and water uptake. *Journal of Cereal Science*, 47:365-371, 2008.
- Harlan J.R.: On the origin of barley. U *Origin, Botany, culture, winter hardness, Genetics, Utilization, Pests. Agriculture Handbook*, Str. 10-36, 338. US. Dept. Agr. Washington, D.C., 1979.
- Hough J.S. i sur.: Naučni aspekti sladarstva i pivarstva (preveo Gaćeša, S.), Poslovno udruženje industrije piva i slada Jugoslavije, 31, Beograd, 1976.
- Kovačević J., Lalić A., Martinčić J., Šimić I., Horvat J., Juzbašić M., Kelečeni Z., Kuti I., Lešić L., Marjanović I., Mužar Z., Nikolić B.: Mogućnosti proizvodnje ječma i slada u Republici Hrvatskoj. *Poljoprivredne aktualnosti*, 30:457-469, 1994.
- Krstanović V., Lalić A., Kosović I., Velić N., Mastanjević K., Mastanjević K.: A Survey of Total β-glucan Content in Croatian Barley Varieties. *Cereal Research Communications*, 44:650-657, 2016.
- Kunze W.: Technologie Bauer und Malzer. 7. völlig neubearbeitete Auflage, VLB Berlin, 1994.
- Lalić A., J. Kovačević: Oplemenjivanje ječma za potrebe sladarstva i stočarstva u Republici Hrvatskoj. *Poljoprivreda*, 3:31-45, 1997.
- Lásztity R.: The chemistry of barley. U *Cereal Chemistry*. R. Lásztity (ur.), Akadémiai Kiadó, Budapest, str. 168-191, 1999.
- Lazaridou A., Biliaderis C.G.: Molecular aspects of cereal β-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects, *Journal of Cereal Science*, 4:101-118, 2007.
- Mansfeld, R.: Das morphologische System der Saatgerste, *Hordeum vulgare* L. s.l (The *morphological* system of cultivated barley, *Hordeum vulgare* L. s.l.). *Der Züchter*, 20:8-24, 1950.
- Marić V.: Proizvodnja ječmenog slada. U *Biotehnologija i Sirovine*. Marić V. (ur.), Poljoprivredni fakultet, Osijek i Agronomski fakultet, Zagreb, str. 155-180, 2000.
- Marić V.: Tehnologija piva. Veleučilište u Karlovcu 39-40, 2009.
- MBA, Moosehead Beer Academy. <http://www.mooseheadbeeracademy.com/barleymalt-part-one-two-bbh/> (pristupljeno kolovoz 2017.)
- Mohaček M.: Pivovarstvo, Priručnik za izobrazbu stručnih kadrova, Ministarstvo industrije N. R. Hrvatske, Zagreb, 1948.
- Munck L., Gibbons G., Aastrup S.: (1981) Chemical and structural changes during malting. U *Proceedings of the 18th European Chapter 171 Brewery Convention Congress* Copenhagen, (IRL Press Limited: Oxford, UK), 11-13, 1981.

- Osman A.M., De Jersey J., Inkerman P.A.: A Novel Approach to a Differential Assay of Barley Malt α -glucosidases, Maltase and Malt Oligosaccharide α -glucosidase. U Wrigley C W (eds.) Proc. of the 46th Australian Cereal Chemistry Conference. Royal Australian Chemical Institute, Melbourne, 172-175, 1996.
- Petravić Tominac V., Novotni D., Zechner-Krpan V., Ćurić D., Srećec S.: Dodavanje vrijednosti proizvodu primjenom β -glukana. *Novi pekar* 10:24-28, 2010.
- Pržulj, N., Momčilović, V.: Oplemenjivanje ječma na prinos i kvalitetu. *Glasnik Zaštite Bilja*, 29:49-57, 2006.
- Pržulj, N., Momčilović, V., Đurić, V.: Dobar tehnološki kvalitet i stabilan prinos – glavni pravci oplemenjivanja ječma u Novom Sadu. Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Zbornik radova 33:151-162, 2000.
- Schuster K., Weinfurtner, F. i Narziss L. ; Die Technologie der Würzebereitung, (1985). Tehnologija proizvodnje sladovine (prijevod S.Gaćeša). Posl. zajed. ind. piva i slada Jug, 15-18, 25-33, 236-243, 1988.
- Strelec I: Aktivnost aminopeptidaza i sastav proteina sorti ječma: Magistarski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Zagrebu, str. 4-42, 2004.
- Swanston J.S.: Associations of the Waxy (wx) Gene With Malting Quality Characteristics in Random Inbred Lines of Barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 102:355-358, 1996.
- Šimić G., Lalić A., Horvat D., Abičić I, Beraković I.: β -glucan content and β -glucanase activity of winter and spring malting barley cultivars. *Acta alimentaria*, 44:542-548, 2015.
- Šimić G.: Utjecaj genotipa i okolišnih uvjeta na parametre sladarske kakvoće ozimog ječma (*Hordeum vulgare* L.), Disertacija, Poljoprivredni institut Osijek, 2009.
- Štefanić K., Marić V.: Pivarski priručnik. Jugoslavensko udruženje pivovara, Beograd, 1990.
- Ullrich S.E., Clancy J.A., Eslick R.F., Lance R.C.M.: Beta-glucan content and viscosity of waxy barley. *Journal of Cereal Science* 4:279–285, 1986.
- VitaminPROS <http://www.vitaminpros.com/barley-beta-glucan.htm> (pristupljeno kolovoz 2017.)
- Wang J., Zhang G., Chen J., Wu F.: The changes of b-glucan content and b-glucanase activity in barley before and after malting and their relationships to malt qualities. *Food Chemistry*, 86:223–228, 2004.
- Wendorf, F., Schild, R., Hadidi, N.E., Close, A.E., Kabusiewicz, M., Wieckowska, H., Issawi, B. and Haas, H.: Use of barley in the Egyptian late paleolithic. *Science*, 205:1341-04 1347, 1979.

- Zhang G., Chen J., Wang J., Ding S.: Cultivar and Environmental Effects on (1→3,1→4)-β-D-Glucan and Protein Content in Malting Barley. *Journal of Cereal Science*, 34:295–301, 2001.
- Zhang G., Wang J., Chen J.: Analysis of b-glucan content in barley cultivars from different locations of China. *Food Chemistry*, 79:251–254, 2002.